

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA**



**TESIS DOCTORAL**

**Efecto modulador del sevoflurano sobre la respuesta  
inflamatoria sistémica secundaria a la ventilación  
unipulmonar en un modelo experimental de cirugía de  
resección pulmonar**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Francisco José González Moraga**

DIRECTORES

**Elena Vara Ameigeiras**  
**Ignacio Garutti Martínez**  
**Carlos Simón Adiego**

Madrid, 2018

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Programa de Doctorado en:  
CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**Departamento de Cirugía**



**EFFECTO MODULADOR DEL SEVOFLURANO SOBRE LA  
RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA SECUNDARIA A LA  
VENTILACIÓN UNIPULMONAR EN UN MODELO EXPERIMENTAL  
DE CIRUGÍA DE RESECCIÓN PULMONAR**

**Francisco José González Moraga**

Madrid, 2016

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Departamento de Cirugía**



**EFFECTO MODULADOR DEL SEVOFLURANO SOBRE LA  
RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA SECUNDARIA A LA  
VENTILACIÓN UNIPULMONAR EN UN MODELO EXPERIMENTAL  
DE CIRUGÍA DE RESECCIÓN PULMONAR**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR**

**Francisco José González Moraga**

Bajo la dirección de los doctores

Elena Vara Ameigeiras  
Ignacio Garutti Martínez  
Carlos Simón Adiego

Madrid, 2016

©Francisco José González Moraga

# AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento:

- A la Dra. Elena Vara Ameigeiras, catedrática del departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Complutense de Madrid, por su persistencia y estímulo, y por toda la ayuda y soporte necesario durante todo este tiempo, sin el cual no hubiera sido posible la realización de esta tesis doctoral.

- Al Dr. Ignacio Garutti Martínez, Médico Adjunto de Anestesiología y Reanimación del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, por ser una constante fuente de ideas y proyectos, al igual que por contar conmigo para esta aventura científica.

- Al Dr. Carlos Simón Adiego, Médico adjunto de Cirugía Torácica del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, por todos sus consejos y porque su dedicación y exigencia han sido una guía fundamental para la realización de este proyecto.

- A mis compañeros, pero sobretodo amigos, el Dr. Javier Casanova Barea y el Dr. Guillermo Sánchez Pedrosa, por estar siempre cuando se les necesita y ser un punto de apoyo incondicional y motivación especial en la realización de este proyecto.

- A todos los residentes y estudiantes que han participado en este proyecto por su dedicación altruista en el “mundo experimental”, por su capacidad de saber escuchar y a la vez, de saber transmitir sus experiencias, y sin los cuales nada hubiera sido posible.

- A la mejor amiga y confidente que uno pueda tener, gracias María José Pastor Donate y, a la persona que ha sufrido estos últimos meses mis altos y bajos en este periplo hacia la realización de esta Tesis Doctoral, gracias Carolina Chaves Martín por tu apoyo incondicional.

*"Sabiduría no es destruir ídolos, sino no crearlos nunca"*  
Umberto Eco

*"No hay viento favorable para el que no sabe dónde se dirige"*  
Lucio Anneo Seneca

*"Tú no eres tu curriculum, eres tu trabajo"*  
Seth Godin

# LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

**ACTH:** Hormona adrenocorticotrópica o corticotropina

**ALT:** Alanina aminotransferasa

**AST:** Aspartato aminotransferasa

**AVs:** Anestésicos volátiles

**DISC:** Complejo de señalización inductor de muerte (del inglés, death inducing signalling complex)

**DPA:** Daño pulmonar agudo

**CAM:** Concentración alveolar mínima

**cFLIP:** Cellular FLICE-like inhibitory protein

**CPAP:** Presión positiva continua en vía aérea

**CRP:** Cirugía de resección pulmonar

**eNOS:** Óxido nítrico sintasa endotelial (del inglés, endothelial nitric oxide synthase)

**EPPN:** Edema pulmonar post-neumonectomía

**ERN:** Especies reactivas de nitrógeno

**ERO:** Especies reactivas de oxígeno

**FiO<sub>2</sub>:** Fracción inspirada de oxígeno

**FMO:** Fallo multiorgánico

**FSH:** Hormona estimulante del folículo

**GC:** Gasto cardíaco

**G-CSF:** Factor estimulador de colonias granulocítico

**GH:** Hormona del crecimiento

**GM-CSF:** Factor estimulador de colonias granulocito-macrófago

**GMPc:** Guadenosín monofosfato cíclico

**HS:** Heparán sulfato

**ICAM-1:** Molécula de adhesión intercelular-1

**ICE:** IL-1beta converting enzyme o caspasa-1

**IFN:** Interferón

**IL-1:** Interleuquina 1

**IL-1ra:** Receptor antagonista de interleuquina 1

**IL-2:** Interleuquina 2

**IL-4:** Interleuquina 4

**IL-6:** Interleuquina 6

**IL-8:** Interleuquina 8  
**IL-10:** Interleuquina 10  
**IL-11:** Interleuquina 11  
**IL-13:** Interleuquina 13  
**IL-24:** Interleuquina 24  
**IL-42:** Interleuquina 42  
**IL-1RI:** Receptor de la IL-1 tipo 1  
**IL-1RII:** Receptor de la IL-1 tipo 2  
**iNOS:** Óxido nítrico sintasa inducible (del inglés, inducible nitric oxide synthase)  
**LH:** Hormona luteinizante  
**LPS:** Lipopolisacárido  
**LT-alpha:** Linfotóxina alpha  
**MAPK:** Protein-quinasa mitógeno activa  
**ARNm:** ARN mensajero (ácido ribonucleico mensajero)  
**MCP1:** Proteína 1 quimioatrayente de monocitos  
**MHC tipo II:** Complejo mayor de histocompatibilidad tipo II  
**MIP-2:** Proteína inflamatoria macrófago-2  
**MMP-9:** Metalomieloproteínasa 9  
**NFkB:** Factor nuclear kappa B  
**NK:** Natural killer (células)  
**nNOS:** Óxido nítrico sintasa neuronal (del inglés, neuronal nitric oxide synthase)  
**NO:** Óxido nítrico  
**N<sub>2</sub>O:** Óxido nitroso  
**OLV:** Ventilación unipulmonar (del inglés, one lung ventilation)  
**PaO<sub>2</sub>:** Presión parcial arterial de oxígeno  
**PAMPs:** Pathogen-Associate molecular patterns  
**PCP:** Presión de enclavamiento/capilar pulmonar  
**PEEP:** Presión positiva tele-espiratoria (del inglés, positive end expiratory pressure)  
**PKA:** Proteína quinasa A  
**PKC:** Proteína quinasa C  
**PIC:** Presión intracraneal  
**PIP:** Fosfatidilinositol  
**PMN:** Polimorfonucleares (leucocitos)  
**PNA:** Péptido natriurético auricular

**PUMA:** p53 upregulated modulator of apoptosis (inglés)

**RT-PCR:** Reacción de la cadena de la polimerasa-transcriptasa inversa.

**RVP:** Resistencias vasculares pulmonares

**RVS:** Resistencias vasculares sistémicas

**SDMO:** Síndrome de disfunción multiorgánico

**SDRA:** Síndrome distrés respiratorio agudo

**SNC:** Sistema nervioso central

**sTNF-R:** Receptor soluble del factor necrosis tumoral

**SRIS:** Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica

**TLV o 2LV:** Ventilación bipulmonar (del inglés, two lungs ventilation).

**TNF:** Factor de necrosis tumoral

**TNFR1:** Receptor de TNF tipo 1

**TNFR2:** Receptor de TNF tipo 2

**TRALI:** Lesión pulmonar aguda por transfusión (del inglés, transfusion related acute lung injury)

**TSH:** Hormona estimulante del tiroides

**Vc/Vt:** Volumen corriente=volumen tidal

**VCAM-1:** Molécula- 1 de adhesión celular-vascular (del inglés, vascular cell adhesion molecule-1)

**VILI:** Daño pulmonar inducido por ventilación (del inglés, ventilation induced lung injury)

**VM:** Ventilación mecánica

**VPH:** Vasoconstricción pulmonar hipóxica



# ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>10</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>13</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>16</b>
 <b>A) RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA EN CIRUGÍA.....</b>	 <b>17</b>
<b>1. Generalidades.....</b>	<b>17</b>
1.1. Respuesta inflamatoria.....	19
1.1.1. Citoquinas y quimioquinas.....	22
1.1.1.1. Interleuquina 1 y Factor de Necrosis Tumoral.....	24
1.1.1.2. Interleuquina 1 e Interleuquina 1 receptor antagonista.....	25
1.1.1.3. Factor de necrosis tumoral.....	26
1.2. Glicocáliz.....	26
1.2.1. Cathepsina B e inflamación.....	27
1.2.2. Sulfato glicanos e inflamación: Heparán Sulfato.....	28
1.2.3. Syndecan-1.....	30
1.3. Apoptosis.....	31
1.3.1. El papel de las proteínas Bcl-2.....	33
1.3.2. Papel del óxido nítrico en la apoptosis.....	34
<b>2. Respuesta inflamatoria en cirugía de resección pulmonar.....</b>	<b>36</b>
 <b>B) RESPUESTA INFLAMATORIA PULMONAR EN CIRUGÍA.....</b>	 <b>38</b>
<b>1. Generalidades.....</b>	<b>38</b>
1.1. Daño pulmonar inducido por la ventilación.....	39
1.1.1. Características fisiopatológicas,,.....	40
1.1.1.1. Fuerzas físicas: barotrauma/volutrauma y atelectrauma.....	40
1.1.1.2. Fuerzas biológicas: biotrauma.....	42
1.1.2. Inflamación en daño pulmonar agudo.....	43
1.2. Daño pulmonar agudo.....	46
1.2.1. Epidemiología: incidencia, factores de riesgo y pronóstico.....	48
1.2.2. Patogénesis.....	49

2. Ventilación mecánica en cirugía de tórax.....	52
2.1. Ventilación unipulmonar.....	52
2.1.1. Ventilación unipulmonar y daño pulmonar agudo.....	53
3. Impacto de la respuesta inflamatoria pulmonar sobre la repuesta inflamatoria sistémica.....	56
 C) EFECTO DE LA TÉCNICA ANESTÉSICA SOBRE LA RESPUESTA INFLAMATORIA (SISTÉMICA Y PULMONAR).....	60
1. Gases halogenados. Sevoflurano. Generalidades.....	61
2. Efectos antiinflamatorios de los anestésicos: sevoflurano y propofol.....	64
 HIPÓTESIS. OBJETIVOS.....	70
A. Hipótesis .....	71
B. Objetivo general.....	71
C. Objetivos específicos.....	71
 MATERIAL Y MÉTODOS.....	72
1. MATERIAL.....	73
1.1. Material biológico: animales .....	73
1.2. Quirófano e instalaciones .....	73
2. MÉTODOS.....	75
2.1. Procedimiento quirúrgico .....	75
2.2. Procedimiento anestésico.....	76
2.3. Grupos experimentales.....	78
2.4. Protocolo de toma de muestras.....	79
2.5. Determinaciones bioquímicas.....	80
2.6. Variables hemodinámicas.....	82
2.7. Variables gasométricas.....	83
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	83

<b>RESULTADOS .....</b>	<b>84</b>
1. Variables hemodinámicas y gasométricas.....	85
2. Niveles plasmáticos de mediadores inflamatorios.....	87
3. Niveles plasmáticos de marcadores del glicocálix.....	88
4. Expresión de mediadores inflamatorios y apoptóticos en tejido hepático.....	91
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>105</b>
1. Modulación por sevoflurano sobre los efectos sistémicos de la ventilación mecánica unipulmonar en cirugía de resección pulmonar: citoquinas y apoptosis.....	106
2. Efectos de la ventilación mecánica unipulmonar sobre el glicocálix en cirugía de resección pulmonar: modulación por sevoflurano.....	118
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>122</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>124</b>

# RESUMEN

## INTRODUCCIÓN

El daño pulmonar agudo (DPA) y el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) son las principales causas de muerte tras cirugía torácica, disminuyendo drásticamente la supervivencia de los pacientes del 92% al 56% al año. En los últimos años, se ha demostrado cómo la ventilación mecánica unipulmonar produce una liberación de citoquinas inflamatorias producto del daño pulmonar (biotrauma). Esta reacción inflamatoria no se confina sólo a los pulmones, si no que también involucra a la circulación sistémica, con la consiguiente liberación de mediadores inflamatorios y degradación del glicocálix endotelial, afectando a órganos distales como el hígado, lo cual ya en el contexto del SDRA y la ventilación mecánica asociada, ofrece una explicación de por qué los pacientes con SDRA no mueren por fallo respiratorio y sí por síndrome de disfunción multiorgánica. Del sevoflurano, anestésico halogenado, es sabida su propiedad inmunomoduladora en estudios de isquemia-reperfusión a nivel cardiaco, SNC o pulmón, teniendo la intención de precisar su papel con respecto a la inflamación sistémica en cirugía torácica donde se requiere ventilación unipulmonar (OLV).

## OBJETIVOS

El objetivo de este estudio es observar el papel protector del sevoflurano, como mantenimiento anestésico, sobre la respuesta inflamatoria hepática secundaria a la ventilación unipulmonar, utilizando un modelo experimental de cirugía torácica donde se realiza lobectomía inferior izquierda.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Veinte cerdos de la raza mini-pig fueron divididos en cuatro grupos, cinco animales por grupo. Diez animales fueron sometidos a lobectomía inferior izquierda, previa toracotomía izquierda, y divididos en dos grupos: Grupo CONTROL, que recibió como mantenimiento anestésico propofol, y grupo SEVOFLURANO, que recibió como mantenimiento anestésico sevoflurano. Se realizaron dos grupos adicionales con la misma metodología que en el grupo CONTROL, pero en uno de ellos sin lobectomía ni ventilación unipulmonar (OLV), grupo SHAM A, y en otro de ellos con OLV, pero sin lobectomía, grupo SHAM B.

Después del procedimiento, los animales fueron despertados y veinticuatro horas después fueron anestesiados de nuevo.

Las mediciones hemodinámicas, de los gases arteriales (GA) y extracciones sanguíneas (ES), así como la toma de biopsia hepática se realizaron en los siguientes momentos del experimento: basal (GA y ES), a los 30 minutos de OLV (GA y ES), a los 120 minutos de OLV (GA y ES), a los 60 minutos de ventilación bipulmonar (GA y ES) y a las 24 horas (GA, ES y biopsia hepática).

Los diferentes parámetros estudiados fueron:

- Los valores de TNF-alpha, IL-1, syndecan-1, cathepsina B y heparán sulfato (HS) fueron obtenidos en suero mediante análisis Western Blot.
- Los valores de TNF-alpha, IL-1, IL-10, NFkB y MCP-1, Bax, Bad, Bak, PUMA, Bcl2, iNOS y eNOS fueron obtenidos en el parénquima hepático mediante análisis Western Blot.
- La expresión hepática del ARNm de la TNF-alpha, IL-1, IL-10, NFkB, MCP-1, iNOS y eNOS fue analizada mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR).

En el análisis estadístico se usaron test no paramétricos para comparar las diferencias entre los valores intragrupo e intergrupos.

## RESULTADOS

Los resultados de nuestro estudio demuestran que:

- Los valores hemodinámicos y gasométricos mostraron una gran estabilidad durante el experimento en los cuatro grupos.
- La ventilación mecánica unipulmonar indujo un aumento de la expresión proteica de TNF-alpha e IL-1 en sangre y de la expresión proteica y del ARNm de TNF-alpha, de IL-1, NFkB y MCP-1 en el hígado. El mantenimiento anestésico con sevoflurano bloqueó dicho aumento.

- Respecto a la IL-10, se observó un aumento de la expresión proteica y del ARNm de IL-10 a nivel hepático, durante el mantenimiento anestésico con sevoflurano.
- La ventilación mecánica unipulmonar indujo un aumento de la expresión proteica de Bax, Bad, Bak y PUMA en el hígado. El mantenimiento anestésico con sevoflurano bloqueó dicho aumento.
- Respecto a Bcl-2, se observó un aumento de la expresión proteica a nivel hepático de Bcl-2, durante el mantenimiento anestésico con sevoflurano.
- La ventilación mecánica unipulmonar indujo un aumento de la expresión proteica y del ARNm de iNOS en el hígado. El mantenimiento anestésico con sevoflurano bloqueó dicho aumento.
- La ventilación mecánica unipulmonar indujo un aumento en los niveles sanguíneos de syndecan-1, heparán sulfato y cathepsina B. El mantenimiento anestésico con sevoflurano atenuó dicho aumento.

## CONCLUSIONES

En nuestro modelo experimental, la ventilación mecánica unipulmonar en cirugía de resección pulmonar indujo una respuesta inflamatoria sistémica y hepática caracterizada por un desequilibrio entre la producción de citoquinas pro y antiinflamatorias, al igual que también se observó una respuesta pro-apoptótica en el hígado.

Nuestro estudio sugiere que el mantenimiento anestésico con sevoflurano reduce la respuesta inflamatoria y apoptótica hepática inducida por la ventilación unipulmonar en cirugía de resección pulmonar. Al igual que atenúa la respuesta de degradación del glicocáliz a nivel del endotelio pulmonar.

# ABSTRACT

## INTRODUCTION

Acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS) are the leading causes of death after thoracic surgery, drastically decreasing the survival from 92% to 56% during first year. In recent years, it has been shown that one lung ventilation (OLV) produces a release of inflammatory cytokines product of lung injury (biotrauma). This inflammatory response is not confined alone to the lungs and impacts in other remote organs, like the liver, with the realising of inflammatory mediators and shepping of lung-endotelial glycocalix. This phenomenon is already in the context ARDS and mechanical ventilation, could be an answer because ARDS patients not die by respiratory failure and yes by multiorgan dysfunction syndrome. Sevoflurane, halogenated anesthetic, has immunomodulatory properties, which have been demonstrated in ischemic-reperfusion studies at cardiac level, central nervous system and lung... trying to define its role with respect to systemic inflammation in thoracic surgery where does require one lung ventilation.

## OBJECTIVES

The objective of the present study was to investigate a possible protective effect of sevoflurane against liver inflammatory response to one lung ventilation, using an experimental swine lung with left caudal lobectomy.

## MATERIALS AND METHODS

Twenty mini pigs were divided in four groups, five animals each. Ten animals underwent to left caudal lobectomy, previous left thoracotomy, and were divided in two groups: group CONTROL, which received propofol, and group SEVOFLURANE, which received sevoflurane. Two additional procedures were performed in two groups with the same methodology as in the control group but without lobectomy nor one lung ventilation, group SHAM-A, and without lobectomy with OLV, group SHAM-B.

After the procedure the animals were awoken and twenty hours later were again anesthetized.

Hemodynamic, arterial blood gas (ABG) and blood samples (BS) measurements, as well as liver biopsies were performed at the following time points: baseline (ABG & BS); 30 minutes OLV (ABG & BS), 120 minutes OLV (ABG & BS), 60 minutes two-lung ventilation (ABG & BS), 24 hours (ABG, BS & liver tissue).

The different parameters to be studied were:

- TNF-alpha, IL-1, cathepsine B, syndecan-1 and heparan sulfate protein expression were gathered through Western blot analysis in blood samples.
- TNF-alpha, IL-1, IL-10, NFkB, MCP-1, Bax, Bad, Bak, PUMA, Bcl2, iNOS and eNOS protein expressions were gathered through Western blot analysis in liver tissue.
- TNF-alpha, IL-1, IL-10, NFkB, MCP-1, iNOS and eNOS ARNm expressions, were analyzed by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

Non-parametric statistical analyses were used to compare differences between groups and intragroup values.

## RESULTS

As to our results

- Hemodynamic and arterial gasometric values showed great stability throughout the experiment in all groups.
- One lung ventilation increased TNF-alpha and IL-1 protein expression in blood samples and TNF alpha, IL-1, NFkB and MCP-1 protein and mRNA expression in control group livers. Sevoflurane blocked these effects.
- Regarding IL-10, an increase of IL-10 protein and mRNA expression in liver was observed in sevoflurane group.
- One lung ventilation increased Bad, Bax, Bak and PUMA protein expression in control group livers. Sevoflurane blocked these effects.



- Regarding Bcl-2, an increase of Bcl-2 protein expression in liver was observed in sevoflurane group.
- One lung ventilation increases Syndecan-1, heparan sulfate and cathepsin B levels in control group blood samples. Sevoflurane blocked these effects.
- One lung ventilation increases iNOS protein and mRNA expression in control group livers. Sevoflurane blocked these effects.

## CONCLUSIONS

In this model, one lung ventilation en lung resection surgery induced a systemic and remote hepatic inflammatory response, reflected by increasing imbalance between pro and anti-inflammatory cytokine production. We have also shown a pro-apoptotic response in the liver during one lung ventilation.

This study suggests that, sevoflurane reduces the inflammatory and apoptotic responses induced in liver by one lung ventilation in lung resection surgery and sevoflurane attenuates the shedding of lung-endothelial glycocalix.

# INTRODUCCIÓN

# A. RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA EN CIRUGÍA

## 1. GENERALIDADES

El término “respuesta al estrés” ha resurgido en los últimos años, para explicar los cambios tanto hormonales como metabólicos que se producen tras el daño o trauma orgánico. Esta respuesta es originada tras una reacción sistémica al daño quirúrgico, abarcando una amplia variedad de efectos tanto a nivel endocrinológico, como inmunológico y hematológico (Tabla 1). Posteriormente y tras profundizar en el estudio de dicha respuesta en el contexto quirúrgico, se comenzó a indagar en cómo los agentes anestésicos y el bloqueo neural poseían la habilidad de modificar la respuesta endocrina y metabólica secundarias al daño post-cirugía.

---

### Activación del sistema nervioso simpático

#### Respuesta al estrés endocrina

Secreción de hormonas hipofisarias

Resistencia a la insulina

#### Cambios inmunológicos y hematológicos

Producción de citoquinas

Reacción de fase aguda

Leucocitosis neutrofílica

Proliferación linfocítica

---

**Tabla.1. Respuesta sistémica secundaria a la cirugía.**

La respuesta al estrés secundaria al acto quirúrgico se caracteriza por una secreción incrementada de hormonas hipofisarias (ACTH, GH, TSH, FSH, LH, vasopresina, beta-endorfina, prolactina...) y por la activación del sistema nervioso simpático. La activación hipotalámica del sistema nervioso autónomo resulta en un incremento de la secreción de catecolaminas en la médula adrenal y la liberación de noradrenalina de las terminaciones nerviosas presinápticas, resultando en unos efectos cardiovasculares claramente reconocibles como son la taquicardia e hipertensión arterial. Además, la función de ciertos órganos vitales como son hígado, páncreas y riñón, es modificada directamente por la estimulación simpática eferente y/o por las catecolaminas circulantes. Con respecto a la liberación hormonal y, más concretamente, de corticotropina o ACTH y cortisol, la cirugía se considera como uno de los factores más potentes que condicionan su liberación, observando cómo sus niveles sanguíneos se incrementan, apenas minutos después del inicio de la intervención. El cortisol es regulado por la secreción de ACTH a través de un conocido mecanismo feedback negativo,

por lo que al aumentar las concentraciones de cortisol en sangre se inhibe la secreción de ACTH. Dicho mecanismo de control, parece estar alterado e incluso ser inefectivo tras el comienzo de la cirugía, por lo que las concentraciones de ambas hormonas permanecen elevadas en esta situación. Otra de las hormonas que se ve incrementada durante el acto quirúrgico es la hormona de crecimiento o GH, cuya secreción se encuentra relacionada con la severidad del daño orgánico producido. Dentro de esta gran variedad de cambios a nivel hormonal en respuesta al estímulo quirúrgico, también podemos observar una disminución en la secreción de insulina, junto a una menor capacidad de su acción a nivel periférico, fenómeno denominado “resistencia a la insulina”; al igual que un aumento en la secreción de glucagón y una disminución de la hormona tiroidea tri-iodothyronina (T3), cuyo valor se normaliza varios días tras la realización de la cirugía.

Podemos concluir que el efecto neto de la respuesta endocrina a la cirugía es una secreción incrementada de hormonas catabólicas. Explicándose así la respuesta al estrés como un mecanismo de supervivencia del organismo tras producirse un daño, consiguiendo así autorregenerarse y sostenerse mientras sus heridas son sanadas y completando los fenómenos de curación. En este sentido, se produce un aumento del metabolismo de los carbohidratos, lo que conlleva altas concentraciones de glucemia, estando sus cifras plasmáticas relacionadas con la intensidad del daño quirúrgico. También se observa un aumento del metabolismo proteico a través de la estimulación cortisol-dependiente, donde los aminoácidos son convertidos a glucosa, ácidos grasos y cuerpos cetónicos. Por último, pero de manera simultánea, también se produce un aumento del metabolismo lipídico donde los triglicéridos se metabolizan a glicerol y ácidos grasos, y un cambio muy significativo con respecto al metabolismo del agua y electrolitos, donde se produce una preservación del agua corporal, favorecido por la secreción de vasopresina u hormona antidiurética (ADH) y un aumento de la retención de sodio, a través del estímulo en la secreción de aldosterona por medio del sistema renina-angiotensina-aldosterona.

Con respecto al papel atribuido al sistema nervioso en la activación de la respuesta al estrés quirúrgico, es muy ilustrativo el estudio clásico dirigido por Egdahl, donde observaba la respuesta adrenocortical en perros al producir un estímulo doloroso en sus extremidades, bien denervadas previamente o con la inervación preservada, observando que aquellos animales que conservaban la inervación de la extremidad presentaban un incremento de las hormonas adrenales, en muestras sanguíneas extraídas de la vena adrenal, al ejercer dicho estímulo

sobre ellos. En los animales, en los cuales el nervio ciático había sido seccionado previo al daño quirúrgico no se observaba un incremento en las hormonas adrenales tras el trauma (Egdahl RH, 1959). Dicho trabajo no proporcionó evidencia suficiente sobre las sustancias locales que pudieran ser liberadas tras el daño quirúrgico, las cuales estimularían el eje hipofisario-adrenal. La idea de que sustancias locales podrían influir sobre los cambios asociados a la cirugía fue avanzando tras el descubrimiento de las citoquinas.

Años más tarde y en este sentido, ya se observaba que en los pacientes sometidos a una intervención quirúrgica, las citoquinas podían aumentar la secreción hipofisaria de ACTH y, por lo tanto, incrementar la liberación de cortisol. Demostrándose un mecanismo de feedback negativo, por lo que los glucocorticoides inhibían la producción de citoquinas, como se observaba en el trabajo de Jameson et cols., donde la respuesta de cortisol al acto quirúrgico era suficiente para disminuir las concentraciones de IL-6 (Jameson P, 1997).

## **1.1. RESPUESTA INFLAMATORIA**

El clásico Celso describió, ya en el siglo II de nuestra era, que los cuatro signos cardinales de la inflamación eran: calor, dolor, tumor y rubor. En nuestros días, la inflamación hace referencia no sólo a efectos localizados como son el edema, la hiperemia y la infiltración leucocitaria, sino también a fenómenos sistémicos, por ejemplo la fiebre y el incremento en la síntesis de ciertas proteínas de fase aguda y mediadores inflamatorios (citoquinas, quimioquinas...). La respuesta inflamatoria se encuentra íntimamente relacionada con los procesos curativos y de reparación tanto a nivel tisular como celular. De hecho, cualquier herida es imposible de sanar en ausencia de inflamación. Sin embargo, los mecanismos usados contra los microorganismos o contra las células desvitalizadas como parte de la respuesta inflamatoria, pueden colateralmente ser perjudiciales para los tejidos sanos circundantes. El inicio, mantenimiento y terminación de la respuesta inflamatoria son procesos extremadamente complejos donde se involucran numerosos y diferentes tipos celulares, así como cientos de diferentes mediadores humorales.

El organismo humano posee un sistema inmune complejo que puede dividirse en tres barreras: física, inmunidad innata e inmunidad adquirida. La reacción inflamatoria está orquestada fundamentalmente por la inmunidad innata a través de la secreción de citoquinas

(Tsimogiannis KE, 2011). La respuesta inmune innata, que ocurre de forma inmediata y sin respuesta específica hacia el antígeno o agresión (mecánica, tumoral...) es mediada por las células Natural Killer (NK) y células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos y monocitos). La segunda respuesta o respuesta inmune adquirida es producida a través del sistema inmune adaptativo, donde tras ser procesado el antígeno por las células dendríticas se produce una expansión clonal de células T y B, siendo una respuesta específica. Los componentes claves del sistema inmune adaptativo incluyen: células (macrófagos, neutrófilos, mastocitos y células dendríticas), el sistema del complemento, citoquinas y quimioquinas, y mediadores moleculares, como son las prostaglandinas, bradiquinina, especies reactivas de oxígeno (ERO) y óxido nítrico (NO). Los linfocitos T y B son los principales mediadores celulares de esta respuesta inmune.

Los linfocitos T se diferencian en dos tipos (Fig.1): Tipo 1 que procuran inmunidad celular y Tipo 2 que apoyan las funciones de las células B y proveen la inmunidad humoral. La exposición de determinados antígenos a las células Th nativas, que expresan en su superficie CD4, provoca que estas células asuman uno de estos dos fenotipos, jugando un papel crucial en la orquestación de la respuesta inmune innata y adaptativa a través de la producción de potentes citoquinas. Las células Th1 producen predominantemente Interferon-gamma (INF- $\gamma$ ) e Interleuquina-2 (IL-2), mientras que las células Th2 secretan fundamentalmente Interleuquina-4 (IL-4), Interleuquina-6 (IL-6) e Interleuquina-10 (IL-10). Existe una relación inversa entre la inmunidad celular y humoral, de forma que cuando predomina la celular (Th1), la humoral (Th2) está deprimida y viceversa. De ahí, que se use el ratio Th1/Th2 para discernir entre una situación de infección y/o inflamación aguda vs crónica.

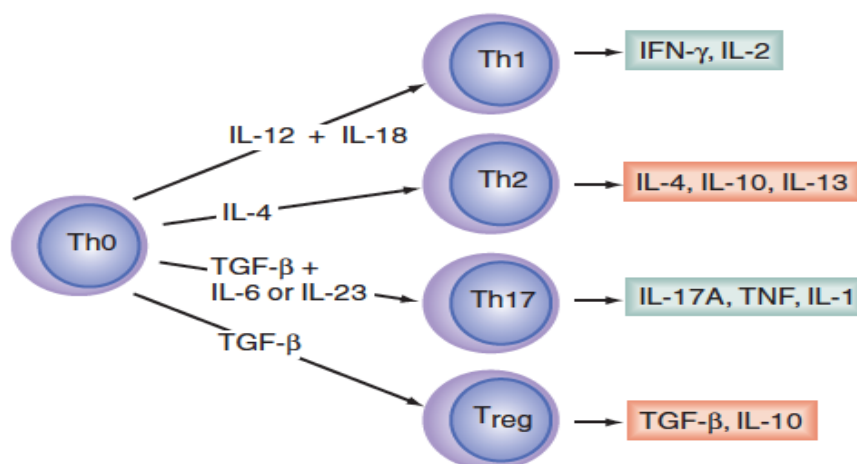


Fig. 1. Diferenciación de los diferentes linfocitos T y producción de interleuquinas

Específicamente, en el pulmón bajo ventilación mecánica se produce un mecanismo altamente complejo (Fig.2), en el que el estrés o daño físico causado por la deformación celular es traducido en señales bioquímicas por medio de proteínas de membrana y canales mecanosensibles, afectando a células endoteliales y epiteliales a nivel pulmonar (Fisher JL. 2004; Vlahakis NE. 2003). Dicha deformación es sensada por proteínas de membrana, generalmente integrinas asociadas a microfilamentos y microtúbulos (Pugin J. 2003), lo que conlleva un cambio conformacional en las mismas, activando la vía de protein quinasa A (PKA) y fosfatidilinositol (PIP) (Geiger B, 2002). Posteriormente, la señal es traducida en el interior celular a través de MAPK (mitogen-activated protein kinase) y, posiblemente, a través del Factor Nuclear Kappa B (NFκB) que a su vez activa la transcripción genética de diversas interleuquinas, fundamentalmente IL-8 (Oudin S, 2002; Pugin J, 1998) aunque también está implicada la IL-6 (Uhlig U, 2003). Estas señales intracelulares, desencadenadas por la deformación celular (mecanotransducción) son las mismas que se inician por la acción de citoquinas pro-inflamatorias o por productos bacterianos que aumentan la transcripción genética de los mediadores inflamatorios.

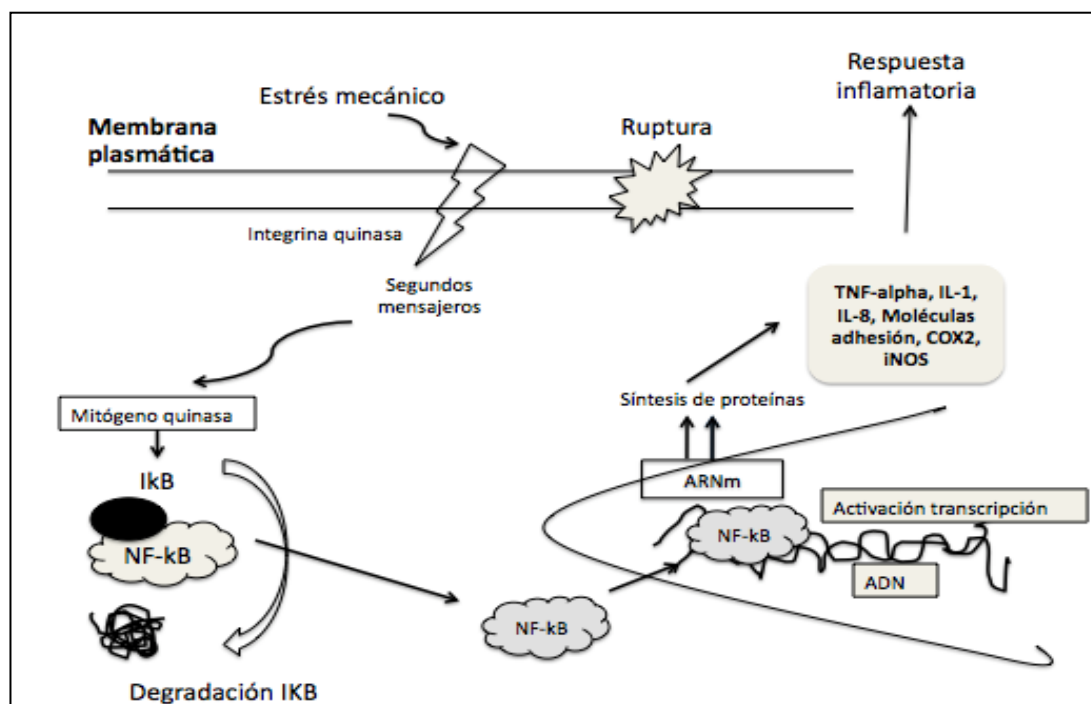


Fig.2. Diagrama molecular de la respuesta inflamatoria debido al estrés mecánico en ventilación mecánica sobre las células endoteliales y epiteliales a nivel pulmonar.

### 1.1.1. CITOQUINAS Y QUIOMIQUINAS

Las citoquinas son proteínas que regulan la comunicación intercelular, inducen la activación de receptores específicos de membrana y modulan la proliferación y diferenciación celular, la quimiotaxis y la secreción de inmunoglobulinas. Su acción principal es la regulación del mecanismo de la inflamación. Son producidas por linfocitos (recibiendo el nombre de linfocinas) y macrófagos activados (monocinas), aunque también las pueden producir las células hematopoyéticas (interleuquinas). Una de las características principales de las citoquinas es su redundancia, lo que significa que muchas citoquinas distintas comparten funciones similares. Las citoquinas pueden clasificarse en función del lugar donde ejercen su acción, poseyendo un efecto *autocrino* cuando se unen a receptores presentes en la propia célula productora. Efecto *paracrino*, cuando actúan sobre diferentes tipos celulares que se encuentran en su vecindad. Por último, en algunos casos pueden liberarse a la circulación sanguínea o linfática, ejerciendo su efecto en otros órganos y tejidos, actuando así de forma *endocrina* (como las hormonas).

Otra clasificación de las citoquinas sería en función de la fase específica de la respuesta inmune en la que actúen, pudiéndose dividir en cuatro grupos (Tabla 2):

- *Citoquinas proinflamatorias*: actúan en la respuesta inmune innata o inflamación propiamente dicha. Encontramos Interleuquina 1 (IL-1), Factor de Necrosis Tumoral alpha (TNF $\alpha$  o TNF-alpha), Interleuquina 8 (IL-8), Interleuquina 12 (IL-12), Interleuquina-16 (IL-16) e Interferon (IFN).
- *Citoquinas que favorecen la inmunidad celular* a través de los linfocitos Th1: Interferon gamma (INF $\gamma$ ) e Interleuquina 2 (IL-2).
- *Citoquinas que favorecen la inmunidad humoral* a través de los linfocitos Th2 y los linfocitos B: Interleuquina 4 (IL-4), Interleuquina 5 (IL-5), Interleuquina 6 (IL-6), Interleuquina 10 (IL-10) e Interleuquina 13 (IL-13).
- *Citoquinas antiinflamatorias*, producidas por los linfocitos Th2: IL-10, IL-13, Interleuquina 24 (IL-24) e Interleuquina 42 (IL-42).



	<b>Acción</b>	<b>Síntesis</b>	<b>Inductor</b>	<b>Acciones</b>
<b>IL-1</b>	Proinflamatoria	Monocitos	Patógenos Inflamación	Pirógeno Hiperalgnesia y alodinia
<b>IL-2</b>	Antiinflamatoria	Linfocitos Th	Patógenos Inflamación	Estimula proliferación de linfocitos T Activa las células NK
<b>IL-4</b>	Antiinflamatoria	Linfocitos Th, mastocitos y basófilos	Linfocitos B	Bloquea síntesis de citoquinas
<b>IL-6</b>	Proinflamatoria	Monocitos, macrófagos, células endoteliales y fibroblastos	endotoxinas	Pirógeno Síntesis de inmunoglobulinas Síntesis proteínas fase aguda Hiperalgnesia y alodinia
<b>IL-8</b>	Proinflamatoria	Monocitos, macrófagos, cel. endoteliales y fibroblastos	IL-1, endotoxinas y TNF-alpha	Factor quimiotáctico y activador de neutrófilos y monocitos
<b>IL-10</b>	Antiinflamatoria	Linfocitos CD4+ (Th2) y macrófagos	Inflamación, ateroesclerosis	Hiperalgnesia Inhibir síntesis de citoquinas por Linfocitos T y macrófagos
<b>IL-12</b>	Proinflamatoria	Macrófagos, monocitos	Activa linfocitos CD8 y Th1 y cel. NK Estimula producción de IFN $\gamma$	
<b>TNF-alpha</b>	Proinflamatoria	Leucocitos, cel. endoteliales y fibroblastos	Patógenos Inflamación	Activa la producción de IL-1, IL-6, PCR y NO Estimula la CRH Pirógeno Activación plaquetaria
<b>Proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1)</b>	Proinflamatoria	Monocitos, cel. endoteliales, osteoblastos	IL-1, endotoxinas y TNF-alpha	Reclutamiento de monocitos
<b>Óxido nítrico</b>	Proinflamatoria	Cel. Endoteliales, macrófagos	Infección	Vasodilatación Broncodilatación Destrucción de patógenos fagocitados por macrófagos Promoción motilidad intestinal

**Tabla 2. Características de las principales citoquinas y óxido nítrico.**

Una respuesta inflamatoria excesiva o una respuesta producida en una zona no afectada (los llamados segundos insultos o lesiones) pueden ser dañinas. De hecho, la respuesta inflamatoria exagerada juega un papel fundamental en el desarrollo del síndrome isquemia-reperfusión, el dolor, la hipercoagulación o síndromes inflamatorios que cursan con lesión endotelial como el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS). Las citoquinas más tóxicas son la IL-1 y el TNF, ya que regulan la respuesta inflamatoria generalizada que aparece en el shock séptico y el síndrome de disfunción multiorgánica (SDMO). Cuando esta

respuesta se inicia en el intraoperatorio, las medidas tomadas en este momento pueden potencialmente modular su intensidad.

#### 1.1.1.1. INTERLEUQUINA 1 (IL-1) Y FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (TNF)

IL-1 y TNF son citoquinas pluripotentes estructuralmente diferentes. Aunque ambas ligan con diferentes receptores celulares, sus múltiples actividades biológicas se superponen considerablemente (Mitchell P, 2012). Por ejemplo, in vitro, ambas citoquinas son capaces de activar las células endoteliales, dirigiendo a una expresión incrementada de las moléculas de adhesión de la superficie celular, como son ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) y VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), las cuales juegan un papel importante en los procesos de extravasación de los neutrófilos desde la circulación sanguínea hacia los lugares donde esté presente la infección o inflamación. De forma similar, en cultivos incubados de monocitos, neutrófilos, células endoteliales, hepatocitos y otros tipos celulares, se observa que IL-1 y TNF dirigen a una secreción de IL-8, la cual es importante a la hora del reclutamiento de neutrófilos al lugar de la inflamación. También TNF-alpha e IL-1 inducen la activación de NFkB, paso crítico para la transcripción de genes necesarios para perpetuar la respuesta inmune innata, que finalmente resultará en la activación y extravasación de leucocitos polimorfonucleares, así como otras células del sistema inmune (Fig.3).

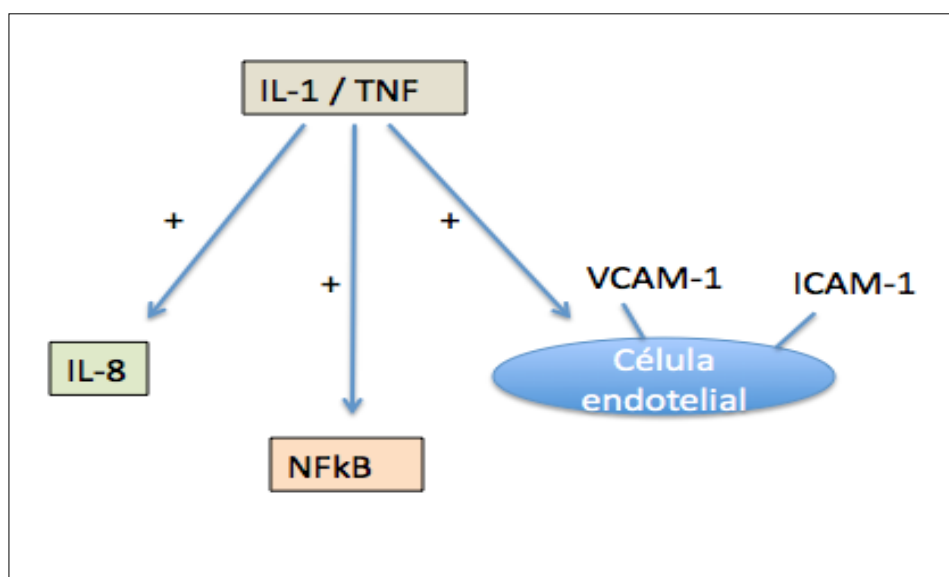


Fig. 3. Interacciones IL-1 y TNF con IL-8, NFkB, ICAM-1 y VCAM-1.

#### 1.1.1.2. INTERLEUQUINA 1 (IL-1) e IL-1 RECEPTOR ANTAGONISTA (IL-1RA)

IL-1 fue, primeramente, descrita como un factor linfocito-activado producido tras la estimulación de macrófagos. IL-1 no es una sola molécula, sino una familia compuesta por tres proteínas distintas, IL-1alpha, IL-1beta y IL-1RA (IL-1 receptor antagonista), las cuales son productos de diferentes genes localizados muy próximos entre sí en el cromosoma 2. IL-1alpha e IL-1beta son idénticos desde el punto de vista funcional. En cambio, IL-1RA es biológicamente inactivo y compite con las otras dos en la unión a los receptores de IL-1 en las células, tiene un efecto inhibidor y, por lo tanto, limita así los efectos mediados por IL-1 (Mitchell P, 2012).

IL-1 es sintetizada en una gran variedad de células, incluyendo monocitos, macrófagos, linfocitos B, linfocitos T, células NK, células dendríticas, neutrófilos y células endoteliales. Ciertos componentes pueden estimular su producción, incluyendo los PAMPs (Pathogen-Associate Molecular Patterns) como son los liposacáridos (LPS) de bacterias gram negativas, el ácido lipoteicoico de bacterias gram positivas y el zymosan de las levaduras. Su producción también puede ser estimulada por otras citoquinas como TNF, GM-CSF (Factor Estimulante de Colonias Granulocito-Macrófago), incluso por IL-1 en sí misma. Aunque todas las células expresan los genes de IL-1alpha e IL-1beta, la mayoría producen una de forma predominante, así por ejemplo los monocitos producen mayoritariamente IL-1beta. Las dos formas (alpha y beta) son sintetizadas de forma inactiva, siendo pro-IL1beta escindida a su forma madura por una proteasa cisteína específica llamada ICE (IL-1beta coverting enzyme) o caspasa-1.

La producción celular de IL-1 e IL-1RA es regulada diferencialmente. Ciertas citoquinas, como IL-4, IL-10 e IL-13, sirven como mediadores antiinflamatorios, en parte promoviendo la producción de IL-1RA. Existen dos tipos distintos de receptores para IL-1, que son los receptores IL-1RI e IL-1RII. Este último es el predominante en las células B, monocitos y neutrófilos.

Concentraciones elevadas en la circulación sanguínea de IL-1beta han sido detectadas en voluntarios sanos a los que se les inyectaba pequeñas cantidades de LPS y en pacientes que presentaban shock séptico. Los niveles de IL-1RII también se encuentran dramáticamente incrementados en pacientes con infecciones graves. Es necesario reseñar que, aunque las concentraciones sanguíneas de IL-1beta tienden a ser relativamente más bajas en pacientes

sépticos evolucionados, sus concentraciones locales pueden estar elevadas en aquellos pacientes con sepsis o ciertas condiciones relacionadas, como síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA).

#### *1.1.1.3. FACTOR NECROSIS TUMORAL (TNF)*

TNF es una citoquina claramente proinflamatoria. TNF es llamada, en ocasiones, TNF-alpha debido a que estructuralmente se encuentra relacionada con otra citoquina llamada originalmente TNF-beta, pero en la actualidad es referida generalmente a una linfotoxina alpha (LT-alpha). Aunque los monocitos-macrófagos son los principales productores de TNF, otras células como mastocitos, queratinocitos, células T y células B son también capaces de liberar dicha citoquina. Una gran variedad de estímulos endógenos y exógenos pueden estimular la expresión de TNF (Mitchell P, 2012).

Existen dos receptores para TNF: TNFR1 y TNFR2. La activación de la inflamación por TNF depende, en última medida, de la activación del factor de transcripción NF-kB.

### **1.2. GLICOCÁLIX**

La membrana alveolo-capilar y, en particular el glicocáliz endotelial, formado por una compleja capa de proteínas de unión de membrana sobre la superficie del endotelio vascular, parece jugar un papel central cuando nos referimos a la fisiopatología de daño pulmonar. El glicocáliz regula la presión oncótica, modula las interacciones celulares entre el plasma y el endotelio, y previene la adhesión de leucocitos y plaquetas al endotelio en situaciones de “estado no activado” (no inflamatorio). La rotura del glicocáliz está presente en todos los tipos de daño pulmonar y este hecho es primordial como componente de la inflamación, la pérdida de permeabilidad capilar y la formación de edema. De acuerdo a los datos actuales, no solo la hialuronidasa si no que también las trombina serin-proteasas, elastasa, proteinasa 3 y plasminógeno, así como cathepsina B dirigen a una pérdida de hialuronano (componente del glicocáliz) de la capa de superficie endotelial y, por lo tanto, promueven a la degradación del glicocáliz.

### **1.2.1. CATHEPSINA B E INFLAMACIÓN**

Como hemos señalado anteriormente, el sistema inmune está compuesto de una enorme variedad de células y moléculas que generan una coordinada y colectiva respuesta ante la exposición de agentes extraños al organismo. Dentro de esta respuesta inmune las proteasas endolisosomales juegan un papel clave.

Las cathepsinas son proteasas lisosomales, clasificadas conforme al lugar donde ejercen su actividad (B,C,F,H,K,L,O,S,V,W y X). Cathepsina B fue descrita en primer lugar y posee actividad endopeptidasa y exopeptidasa (Frlan R, 2006). Participa en la degradación intracelular y en el “turnover” de proteínas, pero también posee efectos extracelulares. Más allá, participa en la resolución de la inflamación que depende de la apoptosis de las células inflamatorias (ej.: neutrófilos y eosinófilos) y su eliminación posterior de la circulación sanguínea por medio de fagocitos-macrófagos.

Recientemente, se ha mostrado que la cathepsinas están asociadas con la regulación de la muerte celular o apoptosis (Lockshin RA, 2004) y se encuentran involucradas en numerosos procesos, tanto patológicos como fisiológicos, como son la maduración del complejo MHC clase II (Major Histocompatibility Complex clase II), el remodelamiento óseo, la diferenciación de queratinocitos, metástasis y progresión tumoral, la artritis reumatoide y la aterosclerosis (Vasiljeva O, 2007; Friedrichs B, 2003) Así, las cathepsinas parecen tener un papel predominante en la respuesta inmune.

La cathepsina B, que proviene de los tejidos tanto normales como tumorales, degrada los componentes de la matriz extracelular como son la laminina, el colágeno tipo IV y la fibronectina (Gole B, 2009). La remodelación de matriz extracelular influye de forma importante en los procesos celulares como la transformación celular y diferenciación, la cura de heridas, aterosclerosis, motilidad, adhesión, invasión, angiogénesis y metástasis (Wang B, 2006; Fernández PL, 2001).

Las citoquinas que se incrementan tras la respuesta inflamatoria, como TNF-alpha, IFN-gamma, IL-1alpha, IFN-alpha y GM-CSF inducen la liberación de cathepsinas por parte de los macrófagos (Liuzzo JP, 1999). Las cathepsinas activadas han mostrado que, bien directamente o bien indirectamente, activan o inhiben ciertas quimioquinas, jugando un papel importante en la respuesta inflamatoria y, por ende, en la inmunidad innata. Las neutrófilos serin-proteasas, como son las cathepsinas B y L, pueden de esta manera ser importantes reguladores de la respuesta inflamatoria inmune innata y podrían ser nuevas dianas terapéuticas en el tratamiento contra los desórdenes inflamatorios.

Con respecto a la inmunidad adaptativa, las cathepsinas parecen jugar también un importante papel en el procesamiento y presentación del antígeno. Por ejemplo, se ha observado que TNF-alpha e IL-1beta incrementan la actividad de cathepsinas S y B en las células dendríticas en humanos, dirigiendo a la formación incrementada de dímeros MHC de clase II y el reconocimiento celular por células T.

### **1.2.2. SULFATO GLICANOS E INFLAMACIÓN: HEPARÁN SULFATO**

Los sulfato glicanos, que se encuentran estructuralmente sobre los proteoglicanos, son piezas claves en la inflamación tanto a nivel molecular como celular. Los grandes eventos de la inflamación se encuentran íntimamente relacionados tanto con la estructura como con la función de una serie de carbohidratos gliconjugados, especialmente los que recubren las superficies en leucocitos y endotelios. Las fracciones carbohidratadas con un papel funcional en la inflamación son esencialmente el tetrasacárido Sialyl-Lewisx de la glicoproteína ligando-1 P selectina (PSGL1) sobre la superficie leucocitaria, y los glucosaminoglicanos sulfatados (GAGs) como son el heparán sulfato, dermatán sulfato y condroitín sulfato, distribuidos como cadenas laterales de proteoglicanos (PGs) tanto en las superficies de las células endoteliales como en los leucocitos. Las células endoteliales son activadas por las citoquinas liberadas por los macrófagos en los tejidos tras producirse un estímulo inflamatorio, siendo la regulación del reclutamiento leucocitario sobre la superficie endotelial una de las primeras funciones de los GAGs durante el proceso inflamatorio.

Otra de las propiedades iniciales de los GAGs en la inflamación es la transcitosis o transporte celular de quimiocinas a través de las membranas de las células endoteliales. Tras la transcitosis, las quimiocinas unidas a proteoglicanos son capaces de reclutar y dirigir los leucocitos a lo largo de la superficie endotelial. De hecho, las quimiocinas liberadas de los macrófagos son estructural y funcionalmente organizadas por los GAGs de las superficies endoteliales para facilitar la propia migración de los leucocitos.

Heparán Sulfato (HS) se encuentra de forma constitutiva en los PGs de leucocitos y células endoteliales. Siendo la heparanasa la enzima hidrolítica que escinde a HS y heparina. De hecho, la modulación o inhibición de heparanasa es uno de las rutas terapéuticas más prometedoras para la intervención sobre la regulación de la inflamación asociada a ciertos eventos y desórdenes.

Heparán Sulfato influye en multitud de moléculas, tipos celulares y procesos ciertamente relevantes en el proceso inflamatorio. HS se une a proteínas de la matriz y superficie celular, citoquinas y quimiocinas. Dichas interacciones modulan la respuesta inflamatoria y la activación y maduración celulares, el reclutamiento, la adhesión al endotelio, así como la extravasación y la quimiotaxis de los leucocitos (Pomin VH, 2015; Götte M, 2003).

Los productos producidos tras la activación leucocitaria, como son TNF- $\alpha$  e IL-1 son capaces de activar las células dendríticas. HS, el cual rápidamente es liberado bajo condiciones de inflamación y daño tisular, se ha visto que induce la maduración fenotípica de células dendríticas murinas inmaduras (Kodaira Y, 2000). Dichas células estimuladas por HS muestran una regulación al alza (*up-regulation*) de los marcadores de activación, una capacidad aumentada aloestimulatoria y una liberación de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y IL-6.

HS causa la activación de los macrófagos con la consiguiente producción de citoquinas y prostaglandina E2 (PGE2). También, HS se une y modifica la acción de varias citoquinas y sus receptores. Simultáneamente, las quimiocinas juegan un papel principal en el reclutamiento leucocitario dentro del proceso inflamatorio. Cuando se inmovilizan sobre el endotelio, las quimiocinas dirigen la adhesión al endotelio de los leucocitos. Los gradientes tanto de quimiocinas solubles, como las inmovilizadas, parecen que juegan un gran papel en la extravasación de los leucocitos dentro de los tejidos. La activación plaquetaria también depende de su interacción con HS (Clemetson KJ, 2000).

### **1.2.3. SYNDECAN-1**

Los syndecans son una familia de proteoglicanos heparán-sulfato transmembrana tipo I. Todas las proteínas syndecan portan grupos HS y algunas pueden, adicionalmente, ser sustituidas por cadenas condroitin sulfato.

La familia syndecan de proteoglicanos transmembrana es la mayor fuente de HS sobre la superficie celular en todos los tipos celulares y están involucrados en la modulación de las interacciones y extravasación leucocito-endotelial, en la formación de gradientes de citoquinas y kininógenos, en la participación en la señalización de las citoquinas y los factores de crecimiento, así como en los procesos de reparación celular y de tejidos (Tabla 3).

En el adulto, el syndecan-1 es expresado sobre las células epiteliales y células plasmáticas malignas, el syndecan-2 se encuentra sobre las células endoteliales y fibroblastos, syndecan-3 predomina en el sistema nervioso, mientras syndecan-4 se expresa de forma ubicua (Bernfield M, 1999). El mayor dominio funcional de las syndecans, las cadenas de HS, se unen específicamente a un gran número de ligandos extracelulares, los cuales se activan en procesos tan diversos como la morfogénesis, la reparación tisular, la defensa inmunitaria, el desarrollo de tumores y el metabolismo energético (Reizes O, 2001; Bernfield M, 1999). Las syndecans juegan un papel primordial tanto en los receptores de la matriz como de la superficie celular, en los correceptores para el factor de crecimiento, la internalización de receptores y en efectos solubles paracrinós. Mientras los dominios citoplasmáticos de las syndecans participan en la señalización e interacciones con el citoesqueleto y actina, la mayoría de las funciones de los dominios extracelulares se pueden atribuir a las cadenas de HS.

Aunque syndecan-1 fue conocido, en un principio, como la “syndecan epitelial” en los tejidos adultos, se expresa también en los leucocitos y células endoteliales. Syndecan-1 es expresado sobre las células pre-B y células plasmáticas. IL-6 puede regular la expresión de syndecan-1 sobre células B (Göette M, 2002) y, también se ha observado que syndecan-1 puede ser inducido en los macrófagos (Yeaman C, 1993)

Los procesos inflamatorios se encuentran íntimamente relacionados a los procesos reparativos, los cuales comparten el mismo tipo de células y moléculas. Durante el proceso de reparación, existen cambios en la expresión tanto de syndecan-1 como syndecan-4, existiendo



un desequilibrio entre proteasas y antiproteasas. La actividad de estas proteasas es modificada por las cadenas de HS de syndecan-1 y syndecan-4.

Proceso	Syndecan involucrada
Modulación en la interacción leucocito-endotelial	Sdc-1
Formación de gradiente de kininógenos	Sdc-1, 2, 4
Modulación de la actividad de quimioquinas	Sdc-1, 2, 4
Heparin binding protein receptor	Sdc-1, 2, 4
Reparación herida/modulación de proteasas	Sdc-1, 4
Señalización factor de crecimiento	Sdc-1, 2, 4
Desarrollo de células hematopoyéticas	Sdc-1, 3, 4
Formación de gradientes de quimioquinas	Sdc-1, 2, 4

**Tabla 3. Acciones de las diferentes syndecans relacionadas con la inflamación.** Sdc: syndecan

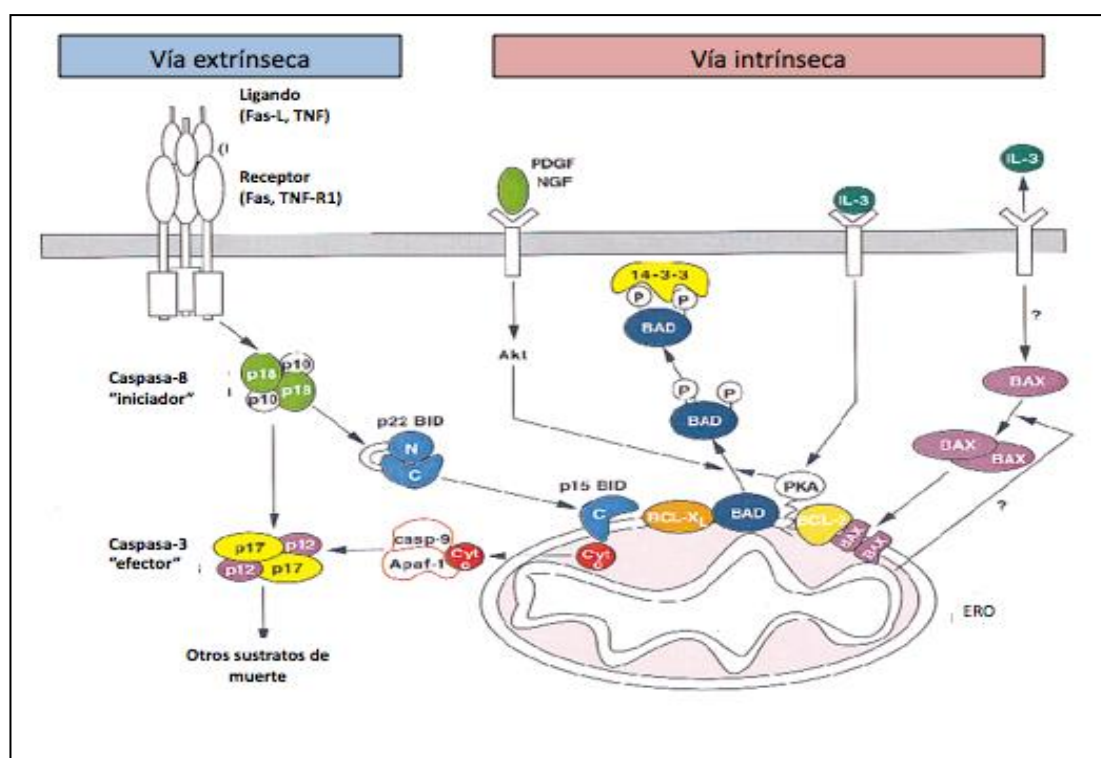
### 1.3. APOPTOSIS

La apoptosis o muerte celular programada es un proceso ordenado por el que la célula muere tras estímulos extra o intracelulares. La apoptosis es fundamental en el desarrollo de órganos y sistemas, en el mantenimiento de la homeostasis del número de células y en la defensa del organismo frente a patógenos. Es un fenómeno fisiológico que interviene tanto en la destrucción celular durante la embriogénesis necesaria para la implantación, organogénesis e inducción al desarrollo; como en la involución hormono-dependiente en individuos adultos, en la muerte celular inducida por linfocitos T, destrucción de células inmunes autorreactivas, etc. También interviene en procesos anormales como la atrofia patológica hormono-dependiente, atrofia de ciertos órganos tras obstrucción ductal, muerte neuronal, muerte celular secundaria a enfermedades virales o tras ciertos estímulos que producirían necrosis si su potencia o dosis fuera mayor, y como mecanismo implicado en la muerte celular debida al síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), entre otros (Chang HY, 2000). Es un proceso finamente regulado, produciéndose graves patologías cuando es alterado mínimamente como ocurre en las malformaciones, alteraciones del desarrollo, enfermedades autoinmunes y neurodegenerativas o aparición de tumores.

Los estímulos que inducen apoptosis pueden ser extra o intracelulares. Las citoquinas como TNF-alpha, radiaciones, falta de señales hormonales o de factores tróficos son algunos ejemplos de estímulos extracelulares que inducen apoptosis. Los fenómenos de mitosis

incompleta, aumento de las especies reactivas de oxígeno (ERO), aumento del calcio citoplasmático o daños irreparables del ADN mediados por la molécula p53 son ejemplos de estímulos intracelulares que disparan o inician procesos apoptóticos.

La apoptosis, principalmente, se pone en marcha a través de dos programas o vías de ejecución (Fig.4): la vía de las caspasas (vía extrínseca) y la vía de la disfunción organelar, en la cual la disfunción mitocondrial (vía intrínseca) es la mejor caracterizada (Green, DR, 1998). La apoptosis comienza con la activación de unas proteínas llamadas caspasas, que producen una cascada proteolítica que culmina con la hidrólisis de proteínas estructurales y de enzimas reparadoras de ADN y con la activación de enzimas hidrolíticas, como las endonucleasas. Los estímulos extracelulares (vía extrínseca) activan la caspasa 8 mientras que los intracelulares (vía intrínseca) activan proteínas pro-apoptóticas e inhiben proteínas anti-apoptóticas de la familia Bcl-2. En respuesta a estímulos intracelulares o como vía alternativa promovida por la caspasa 8 se forma el apoptosoma. La mitocondria está involucrada en la apoptosis inducida por daño o estrés, a través de la liberación de Citocromo C al citoplasma, el cual se une a la proteína Apaf-1, que activa a la caspasa 9.



**Fig.4. Modelo esquemático de vías apoptóticas (extrínseca e intrínseca) y de supervivencia donde se encuentra involucrados los miembros de la familia Bcl-2.** TNF: factor necrosis tumoral, Casp-9: caspasa 9, PKA: proteína quinasa A, ERO: especies reactivas de oxígeno, IL-3: interleuquina 3, PDGF: factores de crecimiento derivados de las plaquetas, NGF: factor crecimiento nervioso, CytC: citocromo C. Akt: proteína quinasa B

### 1.3.1. EL PAPEL DE LAS PROTEÍNAS BCL-2

Las proteínas bcl-2 son una familia de proteínas involucradas en la respuesta apoptótica, a través de su implicación en la permeabilidad mitocondrial (vía intrínseca de la apoptosis). Algunas de estas proteínas, como bcl-2 y bcl-xL son antiapoptóticas, mientras otras como Bad, Bax, Bid, Bim o Bak son pro-apoptóticas. La sensibilidad de ciertas células a la apoptosis puede ser dependiente del balance existente entre las formas pro- y anti-apoptóticas de las proteínas bcl-2.

Las formas proapoptóticas de la familia bcl-2 se encuentran mayormente en el citosol celular actuando como sensores para estímulos de estrés o daño celular, siendo una excepción la proteína de membrana Bak que se encontraría en la cara externa mitocondrial. Seguidamente, ante el estímulo de estrés celular dichas proteínas se reubican sobre la superficie mitocondrial donde se encuentran localizadas las proteínas anti-apoptóticas, cuya función es impedir la liberación de Citocromo C. Esta interacción entre ambas formas (pro- y anti-apoptóticas) interrumpen la función normal de las proteínas antiapoptóticas bcl-2 (inicialmente proteínas integrales de membrana en la mitocondria, retículo endoplásmico y membrana nuclear) (W Zhu A, 1996) y puede dirigir a la formación de poros en la superficie mitocondrial con la liberación de Citocromo C y otras moléculas proapoptóticas (p.e. complejo Bcl-xL-Bax). Todo esto concluye en la formación del apoptosoma y la activación de la cascada de las caspasas. Esta translocación puede ser inhibida por ciertos factores de supervivencia, que inducen la fosforilación de Bad y, por tanto, su secuestro dentro del citosol. Seguidamente al daño producido en el ADN, p53 induce la transcripción de Bax, Noxa y PUMA (p53 upregulated modulator of apoptosis). PUMA interactúa con los miembros antiapoptóticos de la familia Bcl-2, inhibiendo su interacción con las moléculas proapoptóticas, Bax y Bak. Cuando dicha inhibición es anulada, se produce la interacción señalada anteriormente y la liberación de Citocromo C. Se sugiere que la escisión y translocación de Bid puede estar provocada por un estímulo nocivo a nivel mitocondrial a través de la vía TNF/Fas (Gross A, 2000)

La liberación de citocromo C es un evento particularmente importante en la inducción celular de la apoptosis. Una vez ha sido liberado dentro del citosol, este es capaz de interactuar con la proteína Apaf-1, lo cual conduce al reclutamiento de pro-caspasa 9 dentro del complejo multiproteína formando el llamado apoptosoma (citocromo C, Apaf-1 y pro-caspasa 9). Dicha formación dirige hacia la activación de caspasa 9 e induce la apoptosis celular. Aunque el

mecanismo o mecanismos que regulan la permeabilidad mitocondrial y la liberación de citocromo C durante la apoptosis no son completamente conocidos, se piensa que Bcl-xL, Bcl-2 y Bax pueden influir sobre los canales anión voltaje-dependientes (VDAC), pudiendo jugar un papel importante en la liberación de citocromo C (Brenner D, 2009; Ola MS, 2011; Rong Y, 2008).

### 1.3.2. PAPEL DEL ÓXIDO NÍTRICO (NO) EN LA APOPTOSIS

EL NO es producido por un grupo de enzimas, llamadas oxido nítrico sintasas. Estas convierten la arginina en citrulina, produciendo NO en dicho proceso, siendo el oxígeno y la coenzima NADPH necesarios como cofactores (Fig.5). Existen tres isoformas de NO sintasas (NOS), denominadas en función de su actividad o de los tejidos donde fueron primeramente descritas. Son la neuronal NOS (nNOS), la endotelial NOS (eNOS) o la inducible NOS (iNOS). Dichas enzimas se encuentran en una gran variedad de células y tejidos.

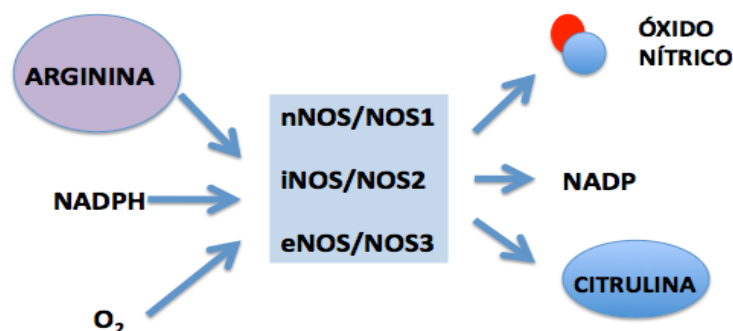


Fig. 5. Esquema de la síntesis del Óxido Nítrico (NO).

Las isoformas nNOS y eNOS son expresadas de forma constitutiva en células de mamíferos y actúan en la producción de NO como respuesta a los incrementos en los niveles de calcio intracelular, aunque en ocasiones son capaces de generar NO independientemente del calcio, como en situaciones donde ciertos estímulos puedan desembocar en la generación de estrés celular. La actividad de iNOS, presente en células inmunomoduladores, células del musculo liso y endotelio, es independiente de los niveles de calcio, sin embargo como ocurre en las otras dos isoformas, es dependiente de la unión de calmodulina. Los incrementos de calcio celular dirigen a incrementos de calmodulina y la unión de ésta a eNOS y nNOS dirige a

un incremento momentáneo en la producción de NO. Por el contrario, iNOS es capaz de unirse a calmodulina con muy bajas concentraciones de calcio, por lo que su actividad no responde a los cambios en los niveles de calcio intracelulares. Como consecuencia, iNOS tiende a producir mayores concentraciones de NO que las otras dos isoformas. En la mayoría de los tipos celulares, los niveles de iNOS son bajos o indetectables. Sin embargo, la estimulación de diversos estímulos, como citoquinas (IL-1, IL6, TNF-alpha e IF-gamma) o factores de crecimiento, así como NFkB, pueden incrementar la transcripción del gen iNOS, con la consecuente producción de NO.

El NO regula la apoptosis en un amplio abanico de tipos celulares, tanto para inducir como para inhibir dicho proceso (efecto dicotómico). Sobre el NO se ha demostrado que inhibe la apoptosis en leucocitos, hepatocitos, trofoblastos y células endoteliales. El NO es capaz de influir sobre la señalización apoptótica en múltiples puntos (Bernhard B, 2003):

1) NO puede regular la expresión de receptores de muerte celular dependientes de GMPc.

2) NO puede alterar la expresión de diversas proteínas como la ácido esfingomielinasa, cuya función es ayudar en los eventos iniciales de señalización en los receptores de muerte celular. Esto reduce la formación de DISC (Death Inducing Signalling Complex), proceso también mediado a través de la producción de GMPc.

3) La actividad de las caspasas también puede ser afectada directamente por NO a través de la nitrosilación de su locus activo, produciendo la inhibición en la función de dicha proteína.

4) El efecto del NO sobre la actividad de las caspasas y la formación de DISC dirige a una reducción en la escisión de Bid (proteína familia Bcl-2) y, por tanto, una falta de amplificación de la señal apoptótica a través de la mitocondria.

5) El NO puede también afectar la expresión de otros miembros de la familia Bcl-2, incluyendo tanto proteínas pro- como antiapoptóticas. Esto puede afectar a la liberación de citocromo C y otros factores mitocondriales, a través de la producción de GMPc.

6) La formación de DISC puede también ser afectada a través del reclutamiento de la proteína antiapoptóticas cFLIP, a la vez influenciada por la proteína PKC, cuya regulación es a través de NO.

Generalmente, los efectos antiapoptóticos de NO pueden ser mediados a través de una serie de mecanismos, como la nitrosilación y la inactivación de caspasas incluyendo caspasa 3, caspasa 1 y caspasa 8. Otros mecanismos incluyen la activación de p53, *up-regulation* de Bcl-2 y Bcl-xL y la activación de la señal de GMPc dirigiendo a la activación de quinasas dependiente de GMPc y la supresión de la actividad de las caspasas. No obstante, el NO tiene un efecto dicotómico. La producción de pequeñas cantidades de NO por la isoforma eNOS reduce el daño que se produce en los fenómenos de isquemia-reperfusión, mientras que su sobreproducción por la activación de la isoforma iNOS se asocia a efectos deletéreos.

## **2. RESPUESTA INFLAMATORIA EN CIRUGÍA DE RESECCIÓN PULMONAR**

Durante la cirugía de resección pulmonar se produce una gran respuesta inflamatoria sistémica mediada a través de múltiples factores. Uno de ellos, como hemos visto, es el trauma quirúrgico, caracterizándose apenas minutos después de su inicio por una profunda disfunción en los mecanismos defensivos del huésped junto a una inmunidad celular “paralizada” como consecuencia de una desmesurada e indistinta respuesta inflamatoria sistémica. Las interleuquinas TNF, IL-1, IL-6 e IL-8 son los principales iniciadores de esta cascada inflamatoria y se relacionan con los efectos deletéreos de la respuesta inflamatoria sistémica (Neoptolemos JP, 1985). De todas ellas, es IL-6 la que demuestra tener un papel fundamental en la respuesta de fase aguda tras la cirugía, correlacionándose su elevación plasmática con el grado y gravedad de estrés quirúrgico, incluyendo otros factores como la duración, cantidad de pérdida sanguínea y el daño tisular ocasionado en dicho proceso. Durante el acto quirúrgico, la intensidad de la agresión afecta a la magnitud de la respuesta inflamatoria y al balance inmunitario, hecho que se ha observado en estudios clínicos sobre cirugía de cáncer colorrectal, al ser comparadas las respuestas inflamatorias e inmunes entre cirugía abierta y laparoscópica, concluyendo que en la cirugía abierta existe un mayor impacto a nivel sistémico, y por el contrario, una menor secreción de citoquinas proinflamatorias cuando dicha cirugía fue realizada por laparoscopia (Tsimogiannis KE, 2012). Así, las técnicas que asocien menor

componente inflamatorio serán, por tanto, más beneficiosas e incluso se asociarán en el postoperatorio a una menor tasa de complicaciones (Sido B, 2004).

Ya en 1994, en un estudio realizado en pacientes sometidos a cirugía torácica no cardíaca como son la esofagectomía o la neumonectomía, se observaba que la respuesta orgánica producida ante ese estímulo quirúrgico producía una respuesta inflamatoria sistémica más importante que aquella que era el resultado de cirugías menos agresivas, como cirugía de resección colorrectal o en pancreatoduodenectomía (Sakamoto K, 1994). Posteriormente, estos resultados se vieron apoyados tras la observación de niveles incrementados de citoquinas plasmáticas (IL-1, IL-6 e IL-8) también durante cirugía torácica no cardíaca (Sato N, 2001). Como posibles explicaciones a estos hallazgos, tenemos el uso de ventilación unipulmonar (OLV) en dichas cirugías, la cual provoca una respuesta inflamatoria locorregional. Otro de los factores comunes a estos procedimientos quirúrgicos, es la incidencia de complicaciones pulmonares postoperatorias, entre ellas el SDRA.

En la cirugía de resección pulmonar (CRP), como en cualquier procedimiento quirúrgico, el grado de respuesta inflamatoria depende de la magnitud del trauma quirúrgico (toracotomía abierta vs cirugía torácica video-asistida) y la naturaleza de la enfermedad, benigna vs maligna (Yim AP, 2000; Atwel DM, 1998). Pero además, en la CRP existen otros factores específicos, como son: la ventilación mecánica del pulmón no quirúrgico durante la ventilación unipulmonar, la hiperoxia en el pulmón ventilado, el fenómeno de isquemia-reperfusión en el pulmón quirúrgico, la manipulación del tejido pulmonar remanente del pulmón quirúrgico y el fenómeno de estrés oxidativo de ambos pulmones durante la intervención.

## **B. RESPUESTA INFLAMATORIA PULMONAR EN CIRUGÍA**

### **1. GENERALIDADES**

La ventilación mecánica es una estrategia terapéutica que consiste en reemplazar o asistir mecánicamente la ventilación pulmonar espontánea cuando ésta es inexistente o ineficaz para la vida. Su propósito es hacer posible que la musculatura respiratoria descanse, junto a facilitar un adecuado intercambio gaseoso en los pulmones. El soporte ventilatorio comenzó a ser indispensable en 1952 tras la epidemia de polio en Copenhague, disminuyendo la mortalidad de los pacientes de un 80% a un 40% (Lassen HC, 1953). A pesar de los claros beneficios obtenidos, se observó que muchos pacientes morían tras el inicio del tratamiento con ventilación mecánica, incluso tras la consecución de parámetros gasométricos óptimos en las muestras de sangre arterial (gasometría). Dicha mortalidad, a posteriori, fue justificada por múltiples factores, incluyendo complicaciones de la ventilación como eran el barotrauma, toxicidad por oxígeno y descompensación hemodinámica (Nash G. 1967). También a este respecto, durante dicha epidemia de polio, se observó a posteriori que la ventilación mecánica podría causar ciertos daños estructurales en el pulmón (Avignon PD, 1956). En 1967, el término “respirator lung” (en español, pulmón del respirador) fue acuñado para describir los infiltrados alveolares difusos y membranas hialinas que se encontraban en las autopsias de los pulmones de los pacientes que habían sido sometidos a ventilación mecánica (Respirator lung syndrome, 1967). Más recientemente, se ha observado que este daño es caracterizado por un infiltrado de células inflamatorias, membranas hialinas, un incremento de la permeabilidad capilar y edema pulmonar. Dicha suma de consecuencias debidas a la ventilación mecánica ha sido denominado como daño pulmonar inducido por ventilación, en inglés Ventilator Induced Lung Injury (VILI).

El daño pulmonar agudo (DPA) tras cirugía torácica es una complicación infrecuente, pero que cuando se presenta se acompaña de una gran morbi-mortalidad (Zeldin RA, 1984), demostrándose en estudios recientes una frecuencia asociada de DPA y SDRA del 2,45% en cirugía torácica (Dulu A, 2006). Existen diferentes factores para el desarrollo de DPA durante la aplicación de OLV en cirugía torácica. Durante la OLV, el pulmón operado permanece completamente atelectasiado (colapsado) temporalmente, permaneciendo en situación de hipoperfusión debido a la vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH). La reexpansión pulmonar y la reperfusión tisular podrían reflejar un daño por isquemia-reperfusión, lo cual puede explicar



el mecanismo subyacente de inflamación que se produce (Gothard J, 2006; Sakao Y, 2001; Jordan S, 2000; Nakamura M, 2000). Otras razones pueden ser las altas concentraciones de oxígeno necesarias durante la intervención, el trauma quirúrgico y el tipo/modo de ventilación pulmonar mecánica utilizada (Jordan S, 2000; Nakamura M, 2000).

Diferentes estrategias han sido descritas para reducir el daño pulmonar en cirugía torácica. La utilización de estas herramientas va dirigida a disminuir la elevada morbilidad asociada a este tipo de intervenciones que se relacionan fundamentalmente con una exagerada respuesta inflamatoria pulmonar y sistémica. Las técnicas de preconditionamiento, el uso de ventilación protectora, la asociación de técnicas regionales para la analgesia perioperatoria, evitar concentraciones elevadas de oxígeno y un adecuado uso perioperatorio de fluidos han sido claves para mejorar el pronóstico de los pacientes sometidos a este tipo de cirugías.

### **1.1. DAÑO PULMONAR INDUCIDO POR LA VENTILACIÓN**

El concepto de VILI no es nuevo. Ya en 1744, Fothergill exponía el caso de un paciente tratado exitosamente con resucitación boca a boca tras la inhalación de humos tóxicos provenientes del carbón (Fothergill J, 1744). Fothergill llegó a la conclusión que la resucitación boca a boca era más “saludable” que realizar dicha ventilación mediante fuelles, pues con ellos no podrían ser determinados la fuerza con la que ventilar al paciente. Así, se entiende que Fothergill delucidó claramente el concepto de fuerzas mecánicas generadas por dichos fuelles (asemejando dicho artificio a un respirador) y su daño pulmonar asociado.

Sin embargo, no es hasta principios de este siglo XXI, cuando se muestra que la estrategia ventilatoria empleada en los pacientes podría disminuir tanto el daño como la mortalidad en el SDRA, dando importancia clínica al VILI en pacientes adultos (Ventilation with lower tidal, 2000).

### 1.1.1. CARACTERÍSTICAS FISIOPATOLÓGICAS

La sobredistensión regional en los pulmones es un factor clave en la generación de VILI. Como no existe una forma de medir dicha sobredistensión pulmonar regional, una estrategia razonable utilizada en clínica es la de limitar las presiones de insuflado en el pulmón. La presión alveolar es relativamente fácil de estimar clínicamente como aquella presión en la vía aérea durante el periodo donde el flujo de aire es cero. En un paciente sometido a ventilación mecánica, sin ningún esfuerzo inspiratorio espontáneo, la presión en la vía aérea que es medida durante el periodo donde el flujo es nulo al final de la inspiración, es llamada presión Plateau (presión meseta). La otra variable necesaria para medir la presión transpulmonar es la presión pleural (*presión transpulmonar (Ptp) = presión alveolar (Pav) - presión pleural (Ppl)*). Existe un gradiente gravitacional en dicha presión pleural, siendo posible su estimación sólo a través de la medida de la presión esofágica (Zin WA, 2005), lo cual no es fácil de realizar en la práctica clínica diaria. Por ello, la presión plateau es la más común de las variables usadas en clínica para indicarnos la sobredistensión pulmonar, aunque hay que tener en cuenta diferentes matices. Así, si el paciente no realiza ningún esfuerzo respiratorio, la presión Plateau representa la presión desarrollada para poder vencer la distensión del pulmón más la de la pared torácica. En un paciente con una pared torácica rígida (e.j. pacientes con derrame pleural o ascitis, laparoscopia...) una gran proporción de la presión ejercida por el ventilador es disipada en el inflado de la pared torácica, más que en la del pulmón. Por lo tanto, una alta presión en la vía aérea (en este caso, Pplateau), puede no estar indicando verdaderamente una presión pulmonar excesiva (ej. Presión transpulmonar elevada).

#### 1.1.1.1. FUERZAS FÍSICAS

- **Ventilación con altos volúmenes pulmonares: volutrauma/barotrauma**

El VILI puede ocurrir por causa de una ventilación con altos volúmenes pulmonares (absolutos), llegando a producirse una rotura pleural, fuga aérea y barotrauma (ej. Neumotórax, neumomediastino y enfisema subcutáneo) (Macklin MT, 1944).

El edema pulmonar puede ocurrir como resultado de la sobredistensión. En el experimento clásico de Webb y Tierney, se observaba que en ratas ventiladas con alta presión en la vía aérea y PEEP de 0 cmH<sub>2</sub>O (ZEEP), el examen postmortem de los animales revelaba

un edema perivascular y alveolar (Webb HH, 1974). Este hecho no sucedía en los animales que fueron ventilados con las mismas presiones pico en la vía aérea, pero a los que sí se les añadía una PEEP de 10 cmH<sub>2</sub>O, mostrándose una relación entre la sobredistensión y los bajos volúmenes teleespiratorios en relación al daño pulmonar. Dreifuss y cols. en su estudio, hallaron edema pulmonar en animales sometidos a ventilación con altos volúmenes corrientes, mientras que dicho edema no aparecía en aquellos animales sometidos también a ventilación mecánica, pero a los que se les reducía sus volúmenes corrientes mediante correas alrededor de su pecho y tórax (disminuyendo la compliancia de la caja torácica). Así, dicho experimento demostró que los volúmenes y no las presiones en la vía aérea, eran el factor más importante en determinar el daño pulmonar, a lo cual se le acuñó el término de “volutrauma” (Dreyfuss D, 1988).

La ventilación con altos Vt o altas presiones puede causar la liberación de mediadores proinflamatorios por diferentes mecanismos, todos los cuales parecen ser clínicamente relevantes (Uhlir S, 2002):

- La ventilación mecánica “dañina” puede provocar el fracaso de las membranas plasmática y epitelial, así como de la barrera endotelial con la liberación de mediadores inflamatorios que estimularán otras células intactas para producir otros mediadores.
- La ventilación mecánica con presiones positivas incrementadas eleva la presión en la circulación pulmonar, provocando una fuerza en “cizalla” en los vasos, con la estimulación de las células endoteliales.
- El daño en dichas barreras causa una pérdida en la **compartmentalización** con la consiguiente propagación de mediadores inflamatorios a lo largo del organismo, pudiendo afectar a otros órganos remotos como riñón, hígado e intestino (Yulug, 2007).
- Estrategias de ventilación menos lesivas que no causan destrucción tisular pueden provocar la liberación de mediadores por mecanismos específicos, presumiblemente a través de la activación de cascadas de señalización activadas por estiramiento en las células alveolo-endoteliales, a lo que se le ha dado el nombre de **mecano-transducción**, como ya vimos al principio de la introducción (Fig.1).

- ***Ventilación con bajos volúmenes pulmonares: atelectrauma***

La ventilación con bajos volúmenes pulmonares (absolutos) puede causar daño pulmonar a través de múltiples mecanismos, incluyendo la apertura y cierre repetidos de la vía aérea y unidades pulmonares (Slutsky, 1999; Bilek, 2003), efectos sobre la función del surfactante pulmonar (Albert RK, 2012) e hipoxia regional. Es lo que se ha dado a conocer en la actualidad como fenómeno de “reclutamiento tidal”. Este tipo de daño pulmonar se caracteriza por un desprendimiento epitelial, membranas hialinas y edema pulmonar en el examen anatomopatológico, conocido con el término de “atelectrauma”. Con ello, la aplicación de PEEP se ha demostrado como una manera eficaz de mantener la vía aérea distal abierta, manteniendo su reclutamiento a través del ciclo ventilatorio (Whitehead T, 2002). En relación a este concepto, en 2015 Amato y cols. en un estudio de 3562 pacientes que precisaban ventilación mecánica, demostraba que tras la utilización y evaluación de la “driving pressure” o presión diferencial ( $\Delta P = \text{Presión plateau} - \text{PEEP} = V_t / \text{Compliancia del sistema respiratorio}$ ), dicho parámetro era la variable que mejor estratificaba el riesgo de DPA en los pacientes con SDRA. Una menor *driving pressure* obtenida mediante cambios en las variables del respirador fue fuertemente asociada con un incremento en la supervivencia a largo plazo de los pacientes estudiados (Amato MB, 2015).

#### ***1.1.1.2. FUERZAS BIOLÓGICAS: Biotrauma***

El barotrauma/volutrauma y atelectrauma han sido considerados las principales causas de VILI hasta que emergió la hipótesis del Biotrauma (Uhlrig S, 2002).

Las fuerzas físicas anteriormente descritas pueden causar la liberación de varios mediadores intracelulares (Tremblay L, 1997) bien de forma directa (por daño celular), bien indirectamente (a través de la activación de vías de señalización celular en el epitelio, endotelio o células inflamatorias). Dichos mediadores pueden dañar directamente el pulmón o predisponer para el desarrollo de fibrosis pulmonar (Cabrera-Benítez NE, 2012). Además, pueden reclutar otro tipo de células, como los neutrófilos, y estas células a la vez liberar más moléculas dañinas. Dicho proceso ha sido denominado como “BIOTRAUMA” (Tremblay LN, 1998). La translocación de los mediadores inflamatorios (Ranieri VM, 1999), bacterias (Nahum, 1997) o lipopolisacáridos (Murphy DB, 2002) de los espacios aéreos al torrente circulatorio

puede incrementar la permeabilidad alvéolo-capilar, a la vez que puede dirigir a múltiples disfunciones en diferentes órganos al pulmón e incluso a la muerte (Slutsky AS, 1998).

Esta hipótesis es sustentada por varios ensayos clínicos donde se observaba que los pacientes con SDRA ventilados con estrategias protectoras mostraban menores concentraciones en el lavado broncoalveolar y/o plasma de mediadores inflamatorios, que aquellos que recibían ventilación convencional (Parsons PE. 2005; Stuber F. 2002; Ranieri VM. 2000). Los estudios experimentales, también sugieren que la ventilación mecánica podría influir en el balance proinflamatorio/antiinflamatorio en los pulmones. Específicamente, Tremblay y cols. (Tremblay L, 1997) mostraron en pulmones de ratas no perfundidos que la ventilación con altos volúmenes corrientes ( $V_c$  o  $V_t$ ) y zero PEEP resultaba en un incremento muy marcado en los niveles de citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y proteína inflamatoria macrófago 2 (MIP-2)) en el lavado pulmonar comparado con los controles.

Como resultado, los conceptos de barotrauma/volutrauma, atelectrauma y biotrauma son actualmente considerados como interrelacionados y no exclusivos el uno del otro.

### **1.1.2. INFLAMACIÓN EN DAÑO PULMONAR AGUDO**

El papel de la respuesta inmune e inflamación en la patogénesis del daño pulmonar inducido por la ventilación mecánica (VILI) ha sido ampliamente estudiado en los últimos años, con variedad de estudios experimentales, incluyendo: modelos animales, preparaciones pulmonares ex vivo y células epiteliales alveolares aisladas. Aunque muchos tipos de células residentes en los pulmones pueden producir mediadores inflamatorios, los macrófagos alveolares tienen la gran capacidad de producir citoquinas y quimioquinas, a la vez que óxido nítrico (NO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN) (Frank JA, 2006). Así, varios estudios describen el posible papel de los macrófagos alveolares en el inicio de la patogénesis del VILI.

La deformación mecánica de los macrófagos alveolares in Vitro, ha mostrado un incremento en la expresión de IL-8 y matrix-metaloproteínasa-9 (MMP-9) junto a un incremento en la translocación de NF $\kappa$ B tras 30 minutos con estiramiento cíclico (Pugin J, 1998). Frank y cols., también sugieren que la activación de macrófagos es una fase temprana y un evento crítico en el inicio del VILI. Ellos demuestran que la adicción de lavado broncoalveolar a ratas expuestas a ventilación mecánica “dañina” durante 20 minutos induce la activación de

macrófagos alveolares nativos primarios en cultivo. Incluso, observaban que la depleción de los macrófagos disminuía el daño endotelial y epitelial inducido por la ventilación (Frank JA, 2006). Además de los macrófagos, los neutrófilos también han sido implicados en la patogénesis de DPA y SDRA (Downey GP, 1999) y vistos como las células efectoras más importantes en la generación del daño tisular característico de VILI (Tremblay LN, 1998).

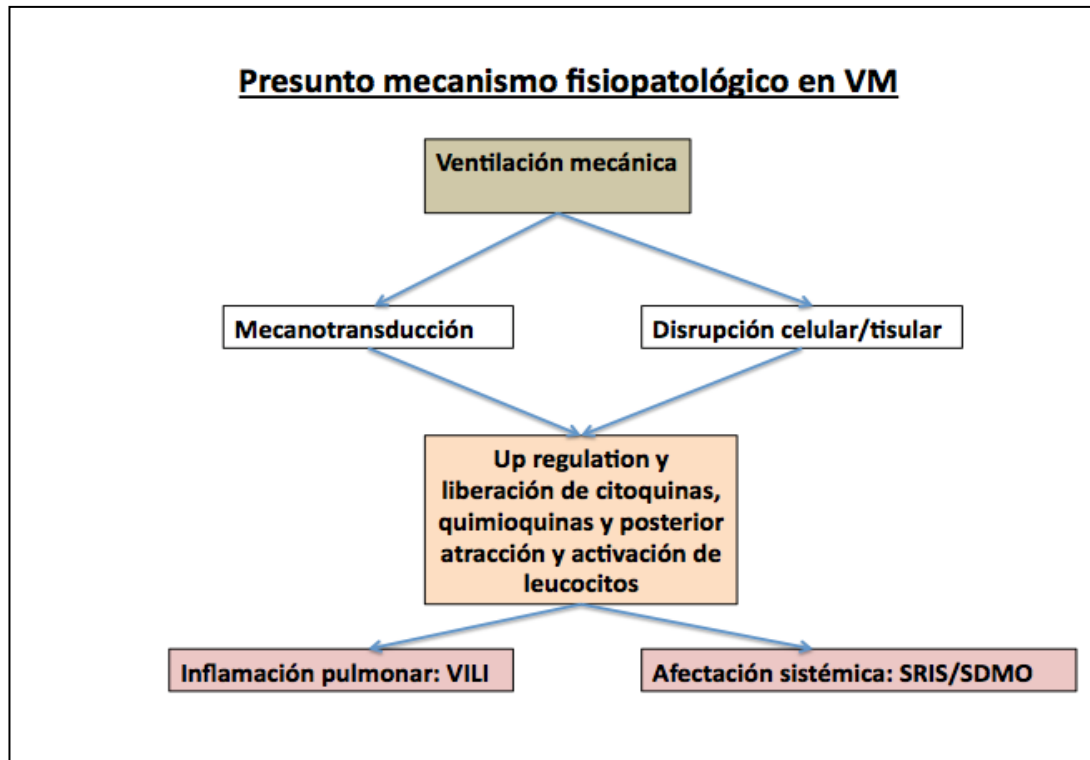
En uno de los primeros estudios que propusieron que la ventilación mecánica (VM) podría producir una respuesta inflamatoria se usaba un modelo en el que se conseguía una depleción de neutrófilos a través de mostaza nitrogenada. Kawano y cols., demostraron que los animales deplecionados de neutrófilos mostraban una marcada mejoría de la oxigenación y una disminución en la evidencia patológica del daño tras VM versus un grupo control tratado solamente con un protocolo de VM y lavado broncoalveolar (Kawano T, 1987). Zhang y cols., con su trabajo, fortalecen la evidencia del papel central de los neutrófilos en el VILI. En dicho estudio, se incubaban los líquidos de lavado alveolar de pacientes bajo VM con SDRA, junto con neutrófilos de voluntarios sanos. Como resultado, se observó una importante activación de neutrófilos, significativamente mayor, en el grupo de los pacientes ventilados de forma convencional comparado con aquellos que fueron ventilados con estrategias protectoras pulmonares (Zhang H, 2002). Anteriormente, se había observado que el reclutamiento alveolar de neutrófilos a través de la instilación de quimioatrayentes no resulta en daño pulmonar (Martin TR, 1989), indicando que otros mediadores, posiblemente las citoquinas son necesarias para la activación de los leucocitos.

Las células alveolares producen mediadores inflamatorios, como son TNF-alpha e interleuquinas como IL-1beta, IL-6, IL-8, IL-10 (Vlahais NE, 1999; Pugin J, 1998). Existen varios artículos donde se demuestra un incremento de citoquinas y quimioquinas en animales sometidos a VM. Específicamente, la VM con altos Vc resulta en un incremento en los niveles de citoquinas proinflamatorias en el lavado alveolar, incluyendo TNF-alpha y MIP-2 (Hoegl S. 2008; Wilson MR. 2003; Haitsma JJ. 2000). Sin embargo, en otros modelos bajo VM “dañina” no se identificaron diferencias significativas de TNF-alpha en el lavado alveolar, aunque otras sustancias proinflamatorias si se encontraban aumentadas (Naik AS, 2001).

También, el uso de modelos de pulmón aislado ha permitido observar cambios en los niveles de mediadores inflamatorios en VILI. El trabajo de Tremblay y cols., mencionado anteriormente, demostraba que la VM con altos Vc, junto a zero PEEP (ZEEP) inducían un

mayor incremento en el espacio aéreo de TNF-alpha, IL-1beta, IL-6, IL-10, MIP-2 e Interferon-gamma, que en aquellos que eran ventilados con bajos Vc con o sin aplicación de PEEP (Tremblay L, 1997). Además, en el estudio de Veldhuizen y cols. Se hallaba en pulmones de ratón aislado un incremento significativo en los niveles de TNF-alpha e IL-6, cuando eran ventilados con Vc de 20 ml/kg sin PEEP (Veldhuizen RA, 2001).

Por otro parte, encontramos estudios clínicos que soportan el concepto de cómo el daño por VM promueve una respuesta inflamatoria pulmonar y una descompartimentalización. Así Ranieri y cols. (Ranieri VM, 1999) observaron un incremento significativo en las concentraciones en líquido broncoalveolar (LBA) y plasma de mediadores inflamatorios como TNF-alpha, IL-6 e IL-8, en pacientes con VM. Más allá, en el ARDSNet trial, donde se ventilaba a los pacientes con estrategias de protección pulmonar mostraba un mayor incremento en los niveles de IL-6 en plasma (Slutsky AS, 2000). A pesar del hecho que la VM con bajos Vc aminora la respuesta inflamatoria, algunos estudios han confirmado que los sujetos sometidos a VM pueden desarrollar un estado proinflamatorio (Determann RM, 2010; Wolthuis EK, 2009). De hecho, todavía no se puede establecer qué estrategia en la ventilación es la más efectiva para limitar la inflamación (Fig. 6).



**Fig.6. Mecanismo fisiopatológico para la respuesta inflamatoria pulmonar y sistémica en ventilación mecánica.** VILI: daño pulmonar por ventilación mecánica. SRIS: síndrome de repuesta inflamatoria sistémica. SDMO: síndrome de disfunción multiorgánico.

## 1.2. DAÑO PULMONAR AGUDO (DPA)

El Daño Pulmonar Agudo (en inglés, Acute Lung Injury (ALI)) es el resultado de una respuesta inflamatoria no regulada y exagerada del organismo, pudiendo progresar a fallo respiratorio grave, llamado Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA).

La primera descripción de SDRA fue publicada en 1967, cuando Ashbaugh & cols., describieron a doce pacientes en una unidad de cuidados intensivos con un fallo respiratorio súbito semejante al distrés respiratorio producido en los niños, caracterizado por hipoxemia refractaria a oxigenoterapia, compliancia pulmonar disminuida e infiltrados alveolares difusos en la radiografía de tórax, precedidos en uno u otro caso por trauma grave, infección viral o pancreatitis aguda (Ashbaugh DG, 1967). Posteriormente, Petty & cols., acuñaron el término de SDRA, que con algunas modificaciones ha perdurado en el tiempo (Petty TL, 1971). Poco después, Murray & cols. propusieron una escala donde se registraban 4 criterios para daño pulmonar basados en la implicación que la gravedad de dicho daño determinaba sobre la supervivencia (Murray JF, 1988). Dichos puntos o criterios comprenden: 1) El número de cuadrantes comprometidos en la radiografía de tórax, 2) el grado de hipoxemia, 3) el nivel de PEEP utilizado y 4) la compliancia pulmonar. Sin embargo, la utilidad de dicho score fue limitada por su falta de validez, así como por carecer de valor pronóstico en las primeras 24-72 horas tras el inicio del SDRA.

En 1994, la Conferencia del Consenso Americano-Europeo (Bernard GR, 1994) (Tabla 4) sobre SDRA propuso unos criterios ampliamente aceptados hasta hace muy pocos años para distinguir DPA y SDRA, basados en la gravedad de la hipoxemia (definida por la razón entre la presión parcial arterial de oxígeno ( $PaO_2$ ), y la fracción de oxígeno inspirado ( $FiO_2$ ),  $PaO_2/FiO_2$ ). Además, otros rasgos distintivos para diferenciar DPA vs SDRA serían la presencia o ausencia de infiltrados bilaterales en la radiografía de tórax, el inicio súbito y agudo del cuadro y una presión de enclavamiento/capilar de la arteria pulmonar (PCP) menor de 18 mmHg (milímetros de Mercurio) o la no evidencia clínica de hipertensión auricular izquierda ni signos de insuficiencia cardíaca ventricular izquierda.



	INICIO	OXIGENACIÓN	RADIOGRAFÍA TÓRAX	PCP
<b>DPA</b>	AGUDO	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> <300 mmHg	Infiltrados Bilaterales	< 18 mmHg ni hipertensión en aurícula izquierda
<b>SDRA</b>	AGUDO	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> <200 mmHg	Infiltrados Bilaterales	< 18 mmHg ni hipertensión en aurícula izquierda

**Tabla 4. Definición de Daño Pulmonar Agudo (DPA) y Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA) de la Conferencia del Consenso Americano-Europea (1994) (4)** PaO<sub>2</sub>: presión arterial parcial de oxígeno. FiO<sub>2</sub>: fracción inspirada de O<sub>2</sub>. mmHg: milímetros mercurio. PCP: presión capilar pulmonar

Sin embargo, dicha definición ha sido ampliamente criticada, encontrando varias deficiencias como su baja especificidad, tan sólo del 51%. Esto llevó a que en el año 2011, un panel de expertos internacionales desarrollara, en el Congreso de la Sociedad Europea de Medicina Intensiva, la nueva definición de Berlín de SDRA, la cual se centró en la viabilidad, fiabilidad, validez y la evaluación subjetiva de su rendimiento (Ranieri VM, 2012). En ella se incorporan varias modificaciones entre las cuales destaca la categorización de SDRA en 3 niveles (leve, moderado y grave), de acuerdo al grado de hipoxemia que presenta el paciente con un mínimo de PEEP (> 5 cmH<sub>2</sub>O) y elimina el concepto de DPA o ALI. Las variables incluidas en la definición fueron: tiempo de inicio, grado de hipoxemia (según PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> y nivel de PEEP), origen del edema pulmonar y anomalías radiológicas (Tabla 5).

	LEVE	MODERADO	GRAVE
<b>Tiempo de inicio</b>	Inicio dentro de 1 semana de conocida la injuria clínica o nuevo deterioro de los síntomas respiratorias		
<b>Imagen torácica*</b>	Opacidades bilaterales –no explicable por derrame, atelectasia pulmonar lobar o pulmonar, o nódulos		
<b>Origen del edema</b>	Fallo respiratorio no explicable completamente por una insuficiencia cardíaca o la sobrecarga de líquidos Necesita evaluación objetiva (ej. Ecocardiograma) para excluir edema hidrostático si no hay factor de riesgo presente		
<b>Hipoxemia PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio</b>	200-300, con PEEP/CPAP ≥ 5	≤200 - > 100, con PEEP ≥ 5	≤ 100, con PEEP ≥ 5

**Tabla 5. Nueva definición de Berlín sobre Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA).**

\*Radiografía de tórax o tomografía axial computerizada. CPAP: presión positiva continua en vía aérea; FiO<sub>2</sub>: fracción inspirada de O<sub>2</sub>; PaO<sub>2</sub>: presión parcial arterial de O<sub>2</sub>; PEEP: presión positiva teleespiratoria

### 1.2.1. EPIDEMIOLOGÍA: incidencia, factores de riesgo y pronóstico

La mortalidad en relación a DPA/SDRA ha ido disminuyendo a lo largo de los últimos 20 años. En la década de los años 80, la mortalidad era aproximadamente en torno al 60-70% (Milberg JA. 1995). Sin embargo, dichos rangos de mortalidad necesitan ser analizados con precaución debido a la falta de uniformidad en la definición del proceso, así como a los criterios diagnósticos no definidos hasta 1994 y, posteriormente, en 2011. Además, se observaba en su análisis una excesiva variabilidad a la hora de recopilar los factores etiológicos, geográficos..., así como un inadecuado registro de datos (Johnson ER, 2010).

En 2003, Goss & cols., usando la NIH-found SDRA network database entre 1996-1999, estimaron la incidencia de DPA, siendo de 64,2 per 100.000 personas/año (Goss CH, 2003). Posteriormente, Rubenfeld & cols (Rubenfeld GD, 2005) estimaban unos 200.000 casos de DPA anualmente en los Estados Unidos, asociados a 74.500 muertes, con una mortalidad del 39%, acorde a las tasas de mortalidad del 40-60% previamente calculadas en otros estudios (Ware LB, 2000). En una revisión sistemática publicada en 2009, realizada por Phua y cols., se mostraba que la mortalidad había permanecido relativamente estable desde 1994, año en el que como se señalaba anteriormente, se publica la definición de DPA/SDRA hasta su actualización en la Conferencia de Berlín. Antes en 1991, se observaba un punto de inflexión con una menor mortalidad debido a la introducción del concepto de hipercapnia permisiva en el abordaje terapéutico de estos pacientes. En esta revisión, la mayor mortalidad fue asociada con los estudios observacionales más que en los ensayos clínicos y un incremento en la edad de los pacientes. Se concluía y estimaba una mortalidad del 40-45% para los estudios observacionales y 35-40% para los ensayos clínicos randomizados (Phua J, 2009).

Ya en la Conferencia Consenso Americano-Europea en 1994 se definieron varios trastornos clínicos predisponentes de DPA en función del mecanismo a través del cual pueden causar daño pulmonar (Bernard GR, 1994). Así, en el primer grupo de dichos trastornos se encuentran aquellos que son causa directa de daño pulmonar, mientras en el segundo grupo se produce el daño pulmonar de forma indirecta (Tabla 7). Un proceso neumónico y la aspiración gástrica serían las causas más comunes de daño directo, mientras la causa más frecuente de daño pulmonar de forma indirecta son la sepsis y el trauma grave con shock y las transfusiones sanguíneas múltiples (TRALI). Especialmente, la sepsis presenta una mayor tasa de mortalidad que el trauma mayor (43% vs 11%), mientras la neumonía y la broncoaspiración

tienen una mortalidad intermedia (36% y 37%, respectivamente) (Eisner MD, 2001). Otros factores que influyen en la mortalidad son la edad y la raza. Rubenfeld y cols. encontraron que la mortalidad era significativamente menor en pacientes entre 15-19 años de edad (24%) que en aquellos mayores de 85 años (60%) (Rubenfeld GD, 2005). Por otro lado, los afroamericanos e hispanos tienen una mayor mortalidad que los de raza caucásica (33% vs 27%) (Erickson SE, 2009). Finalmente, los pacientes con múltiples comorbilidades, etilismo crónico o enfermedad pulmonar crónica tienen una mayor riesgo de desarrollar DPA (Ware LB, 2000).

DAÑO DIRECTO	DAÑO INDIRECTO
Infección pulmonar difusa (ej. Neumonía)	Sepsis
Aspiración	Transfusión sanguínea
Contusión pulmonar	Trauma grave no torácico
Inhalación de tóxicos	By-pass cardiopulmonar
Ahogamiento	Pancreatitis aguda

**Tabla 7. Trastornos clínicos asociados con el desarrollo de DPA y SDRA, identificados por el Comité de la Conferencia Consenso Americano-Europea 1994.**

En cuanto al pronóstico, los pacientes que sobreviven a un episodio de DPA experimentan una reducción en la calidad de vida (Weinert CR, 1997) y una limitación funcional persistente a largo plazo como resultado de la debilidad muscular secundaria al encamamiento y ventilación mecánica prolongados. De hecho, también persiste una ligera disfunción pulmonar tras su resolución, relacionada con la disfunción en el intercambio gaseoso durante el ejercicio, aunque estas anomalías suelen ser asintomáticas (Herridge MS, 2003) y, en la mayoría de los pacientes, la función pulmonar retornará a sus parámetros normales dentro de los 6-12 meses posteriores (McHugh LG, 1994).

### 1.2.2. PATOGÉNESIS

El DPA es una entidad caracterizada por inflamación aguda que causa disrupción de las barreras epitelial y endotelial a nivel pulmonar. Las características celulares del DPA incluyen la pérdida de la integridad de la membrana alveolo-capilar, una excesiva migración de neutrófilos transepitelial, y una tendencia proinflamatoria mediante mediadores citotóxicos (Johnson ER, 2010).

En humanos, la respuesta inflamatoria intrapulmonar comienza antes del inicio del DPA clínicamente establecido y es mucho más intenso en los primeros 3 días después del inicio del DPA/SDRA (Park WY. 2001; Goodman RB. 1996). Esta fase aguda es caracterizada por la extravasación de proteínas y células inflamatorias dentro del espacio alveolar junto con la formación de las membranas hialinas características. Esta etapa, también llamada FASE EXUDATIVA, es producto de la consecuencia del daño epitelial y endotelial junto al incremento en la permeabilidad de la barrera alvéolo-capilar (Tomashefski J. 2003; Ware LB. 2000; Pugin J. 1999). Posteriormente, tras 1-2 semanas, se establece la denominada FASE PROLIFERATIVA, caracterizada por la proliferación de células alveolares tipo II en los septos alveolares y por el inicio de la regeneración epitelial (Tomashefski J. 2003). Bajo condiciones normales, la membrana basal es reepitelizada y reestructurada hasta renovar un alvéolo normal, junto a la restauración en la capacidad del transporte de fluidos y una rápida absorción del edema alveolar. Sin embargo, en algunos pacientes dicho edema puede persistir, con la proliferación de células mesenquimales en el alvéolo, estableciéndose la denominada FASE FIBRÓTICA (Ware LB, 2000).

Durante el DPA, se produce un daño microvascular en el endotelio mediado por citoquinas inflamatorias, células inmunes activadas y especies reactivas, como ERO o ROS (Reactive Oxygen Species/Especies Reactivas de Oxígeno), con la consecuencia de un incremento en la permeabilidad capilar. Esta alteración permite la entrada de líquido rico en proteínas dentro del intersticio (Pugin J, 1999). En varios estudios se ha observado un incremento la liberación de factor Von Willebrand (Flori HR, 2007; Ware LB, 2004; Ware LB, 2001) y una up-regulation (regulación al alza) de la molécula-1 de adhesión intercelular (ICAM-1) (Calfee CS, 2009) seguidos a este daño endotelial. También dicho daño contribuye al reclutamiento leucocitario, trastornos en la coagulación y daño vascular.

La activación del sistema inmune contribuye al edema pulmonar en el DPA y SDRA. Normalmente, > 90% de las células alveolares en el fluido alveolar son macrófagos alveolares y > 2% son neutrófilos. Sin embargo, en el DPA esta relación se invierte y los neutrófilos llegan hasta >90% (Canonico AE, 1997). Los macrófagos contribuyen al DPA, pues regulan la respuesta inmune e inflamatoria a través de la liberación de varios mediadores incluyendo citoquinas, quimioquinas, metaloproteasas y ERO. También, las células endoteliales y los Neumocitos tipo II pueden producir varias citoquinas y quimioquinas bajo numerosos estímulos (Sica A. 1990, Kwon OJ. 1994). Además, algunos de los mediadores en el DPA pueden regular

al alza (up-regulation) varias moléculas de superficie sobre la membrana endotelial y epitelial, permitiendo a los leucocitos, principalmente neutrófilos, adherirse y migrar a través de la barrera alvéolo-capilar (Orfanos SE. 2004; Tosi MF. 1992; Springer TA. 1990). De hecho, es característico de la fase aguda de DPA la existencia de un cúmulo marcado de neutrófilos, por lo que se consideran pieza clave en la patogénesis del daño pulmonar, así como los principales perpetuadores en la respuesta inflamatoria (Lee WL. 2001; Abraham E. 2000). La activación prolongada de los neutrófilos contribuye a la destrucción de la membrana basal y con ello al incremento en la permeabilidad alvéolo-capilar (Zemans RL. 2009; Lee WL. 2001). Específicamente la elastasa, un mediador neutrofílico, posee el efecto de degradar las proteínas de unión epiteliales, al igual que también posee efectos pro-apoptóticos y citotóxicos directos (Ginzberg HH, 2004; Ginzberg HH, 2001). Además, se ha observado que aquellos pacientes con SDRA con un nivel incrementado en el factor estimulador de colonias granulocítico (G-CSF), factor anti-apoptótico en el fluido pulmonar, presentan un peor pronóstico (Wiedermann FJ, 2004).

En la respuesta inflamatoria que acontece al DPA se observa un complejo balance entre las citoquinas pro- y anti-inflamatorias, responsables de iniciar y regular dicha respuesta (Strieter RM, 2002). IL-1beta y TNF-alpha son citoquinas que ya aparecen en las etapas tempranas de la respuesta inflamatoria y son capaces de iniciar y potenciar dicha respuesta, como se ha logrado demostrar en estudios clínicos (Cross LJ, 2011). Además, son capaces de inducir la producción de otras citoquinas, como IL-6 e IL-8 (Strieter RM, 1994). IL-6 es una citoquina pleotrópica con múltiples funciones, como la estimulación de proteínas de fase aguda, activación de células T o incluso la inhibición en la producción de IL-1beta y TNF-alpha (Jones SA, 2005). La IL-8, perteneciente a la familia de quimioquinas CXC, posee una actividad neutrófilo-quimiotáctica (Strieter RM, 1994), siendo su síntesis estimulada por IL1-beta, TNF-alpha y el lipopolisacárido bacteriano. IL-8 es uno de los mediadores más importantes de la respuesta inflamatoria y es, además, un potente factor angiogénico.

En pacientes con DPA/SDRA, estas citoquinas proinflamatorias se encuentran elevadas de forma persistente en plasma y son altamente predictivas de mortalidad (Pugin J. 1996, Meduri GU. 1995, Stapleton RD. 2010). Además, IL-1beta, TNF-alpha e IL-8 están elevadas en el fluido alveolar de los pacientes con SDRA (Cross LJ. 2011; Pugin J. 1996; Meduri GU. 1995). Sin embargo, la presencia de varios inhibidores específicos de citoquinas proinflamatorias, como el receptor antagonista de IL-1 (IL-1ra), Receptor soluble de TNF

(sTNF-R) y auto anticuerpos contra IL-8, así como citoquinas antiinflamatorias no específicas como IL-10 e IL-11 han sido descritas en la modulación de la respuesta inflamatoria en el daño pulmonar y su baja presencia en el fluido alveolar en pacientes con SDRA es asociado con un incremento en la mortalidad de dichos pacientes (Park WY, 2001; Ware LB, 2000). De ahí, que el balance existente entre ambas clases de citoquinas, pro- y antiinflamatorias, pueden dirigir a que vayan apareciendo las diferentes fases de DPA, proliferativa y fibrótica.

## **2. VENTILACIÓN MECÁNICA EN CIRUGÍA DE TÓRAX**

### **2.1. VENTILACIÓN UNIPULMONAR**

El desarrollo del aislamiento pulmonar y la ventilación unipulmonar hizo posible la evolución de la cirugía torácica como una subespecialidad independiente. La ventilación selectiva de un pulmón fue primeramente descrita por Gale y Waters en 1931, desarrollándose posteriormente la primera neumonectomía por cáncer de pulmón en 1933 con dicha técnica ventilatoria intraoperatoria.

Numerosos procesos patológicos y actos quirúrgicos pueden precisar de la OLV en la actualidad, como son: cirugía pulmonar, esofágica y mediastínica, empiemas, neumotórax o derrame pleural recurrente, aneurismas o disección de aorta torácica y, más recientemente, ablación con radiofrecuencia de la fibrilación auricular mediante toracoscopia al igual que simpatectomías en pacientes que padecen hiperhidrosis. También se puede precisar de la separación ventilatoria de ambos pulmones al estar uno de ellos contaminado, debiendo proteger al otro pulmón, como ocurre en el sangrado pulmonar masivo o infecciones purulentas unilaterales (abscesos, quistes...).

La fisiología de la OLV está relacionada íntimamente a sus efectos sobre el binomio ventilación-perfusión (Grichnik KP, 2005; Szegedi LL, 2001; Cohen E, 2001). El aislamiento de un solo pulmón produce un desacoplo en la relación ventilación-perfusión (V/Q) en el pulmón operado, que puede condicionar una hipoxemia muy importante si no se aplica el tratamiento adecuado. En estos últimos años, se ha hecho un especial énfasis en los estudios publicados sobre el papel potencial de la OLV en el desarrollo de daño pulmonar postoperatorio.

### **2.1.1. VENTILACIÓN UNIPULMONAR (OLV) Y DAÑO PULMONAR AGUDO (DPA).**

El DPA ha reemplazado a la hipoxia como principal preocupación durante la OLV. El daño pulmonar tras una resección pulmonar ha sido ampliamente reconocido años atrás bajo la forma de edema pulmonar postneumonectomía (EPPN) (Zeldin RA, 1984). Aunque las neumonectomías implican un alto riesgo de daño pulmonar, resecciones más pequeñas del parénquima pulmonar pueden también resultar en una patología similar. El DPA tras cirugía de resección pulmonar es afortunadamente infrecuente, ocurriendo en un 2.45% de todas las cirugías de resección, con un pico del 7.9% tras neumonectomía. Aunque infrecuente, su morbilidad es elevada siendo alrededor del 40% (Dulu A, 2006). Los factores causales de DPA tras resección pulmonar han permanecido difíciles de elucidar. Inicialmente, los factores de riesgo recayeron sobre la lateralidad de la cirugía (mayor en hemitórax derecho) y sobre la sobrecarga de fluidos perioperatorios. A lo largo de los años, el empeoramiento en el drenaje linfático, la técnica quirúrgica, el daño pulmonar inducido por ventilación (VILI), la transfusión de sangre y hemoderivados, aspiración, infección, estrés oxidativo y los fenómenos de isquemia-reperfusión se han ido añadiendo como potenciales factores de DPA tras OLV (Jordan S, 2000). Algunos autores describen dos patrones clínicos de DPA en post-toracotomía, correspondientes a dos desencadenantes patogénicos diferentes: DPA primario, desarrollado dentro de los 3 primeros días y desencadenado por la cirugía, y un DPA posterior, donde el desencadenante serían las complicaciones postoperatorias, como la broncoaspiración, neumonía o fístulas broncopleurales, generalmente observado entre los 3 y 10 días postoperatorios (Eichenbaum KD, 2010; Kilpatrick B, 2010; Licker M, 2009).

<p><b>Paciente:</b></p> <p>Baja función pulmonar predicha postoperatoria</p> <p>Daño pulmonar preexistente:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Trauma</li> <li>• Infección</li> <li>• Quimioterapia</li> </ul> <p>Abuso crónico de alcohol</p> <p>Género femenino</p> <p><b>Procedimiento:</b></p> <p>Trasplante pulmonar</p> <p>Resección mayor (neumonectomía &gt; lobectomía)</p> <p>Esofagectomía con sobrecarga hídrica perioperatoria</p> <p>Transfusión sanguínea</p> <p>OLV prolongada (&gt; 100 minutos). Presión pico &gt; 35-40 cm H<sub>2</sub>O</p> <p>Presión Plateau &gt; 25 cm H<sub>2</sub>O</p>
---

**Tabla 8. Factores de riesgo de daño pulmonar agudo tras ventilación unipulmonar.**

El papel causal de la OLV sobre el establecimiento del DPA está siendo cada vez más claro. Se observa como los cambios radiológicos en pacientes con DPA tras cirugía torácica son peores en el pulmón no operado y, por tanto, ventilado (Padley SP, 2002). Un análisis retrospectivo sobre los factores de riesgo de DPA tras resección pulmonar mostró que el incremento en la duración de la OLV es, por si misma, un factor de riesgo en el desarrollo de DPA (Licker M, 2003). En modelos animales, la OLV produce cambios histológicos compatibles con el daño pulmonar, incluyendo congestión vascular y engrosamiento de la pared alveolar, junto a una disminución de los niveles de óxido nítrico (NO) en el pulmón ventilado (Yin K, 2007). La reexpansión del pulmón no ventilado (quirúrgico) tras cortos periodos de OLV ha mostrado ser una causa de liberación de citoquinas proinflamatorias en animales (Funakoshi T, 2004), observándose una elevación de citoquinas similar en los pacientes sometidos a cirugía torácica (Michelet P, 2006; Schilling T, 2005). Mucha de la culpa en el desarrollo de DPA tras OLV ha recaído en la utilización de altos Vc. La OLV ha sido comparada con el SDRA, ya que ambos simulan la ventilación del llamado “baby lung” con una reducción del parénquima pulmonar a ventilar (Senturk M, 2006). Por lo tanto, altos Vc pueden implicar altas presiones teleinspiratorias para poder ventilar tanto durante la OLV, como en



pacientes con SDRA. Existiendo ya alguna evidencia sobre la relación entre la reducción de Vc y la reducción de los niveles de citoquinas tras OLV (Brodsky JB, 2001).

La mayor evidencia que data que los Vc per se están asociados a la etiología de DPA en cirugía torácica proviene del estudio de Schilling y cols (Schilling T, 2005), donde investigaron a 32 pacientes sometidos a cirugía mediante toracotomía que precisaban OLV. El volumen minuto y PEEP fueron idénticos en ambos grupos y solo el Vc fue diferente. Los pacientes fueron ventilados en OLV con Vc de 10 ml/kg ó 5 ml/kg, pero sin PEEP. La OLV fue asociada con una elevación de citoquinas, TNF-alpha y sICAM-1, pero en menor grado en los pacientes que recibieron Vc bajos. Recientemente, Blank y cols. van un paso más allá en la evolución pronóstica de estos pacientes, y observa como los volúmenes corrientes bajos dentro de una estrategia de ventilación pulmonar protectora en OLV, pero sin PEEP adecuada, no son suficientes para disminuir la frecuencia de complicaciones pulmonares postoperatorias (Blank RS, 2016).

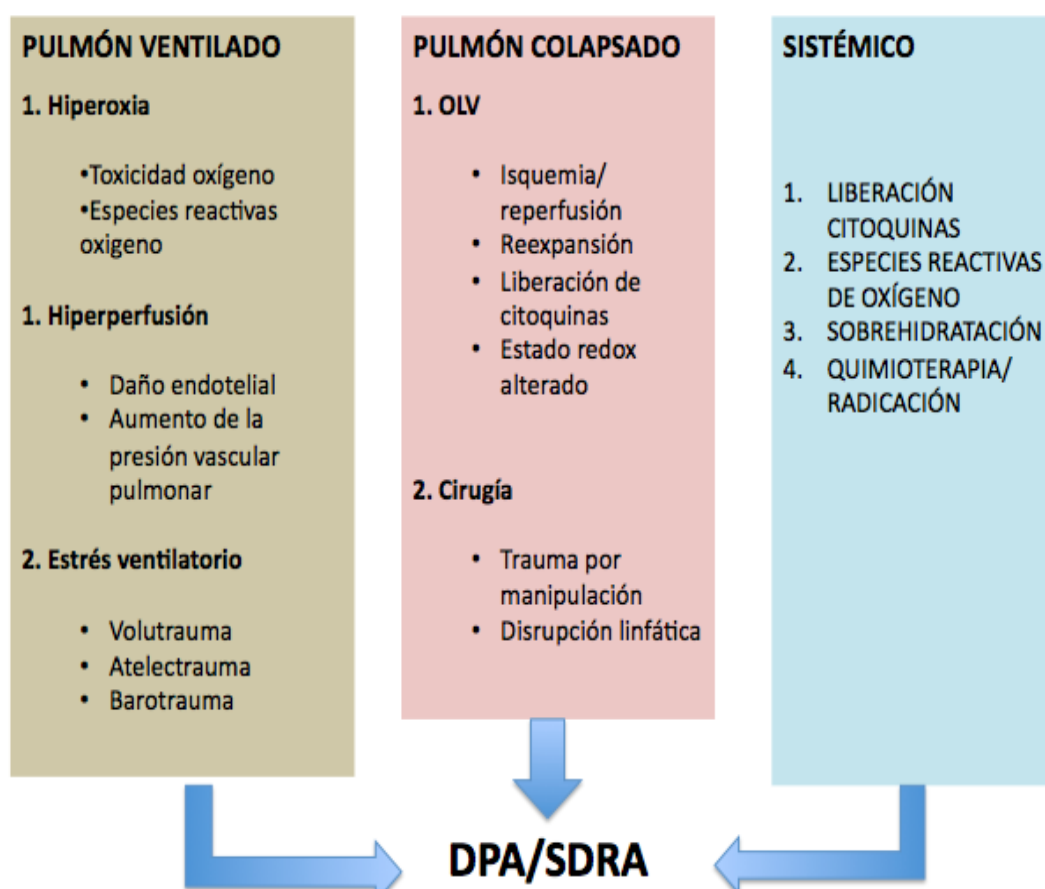


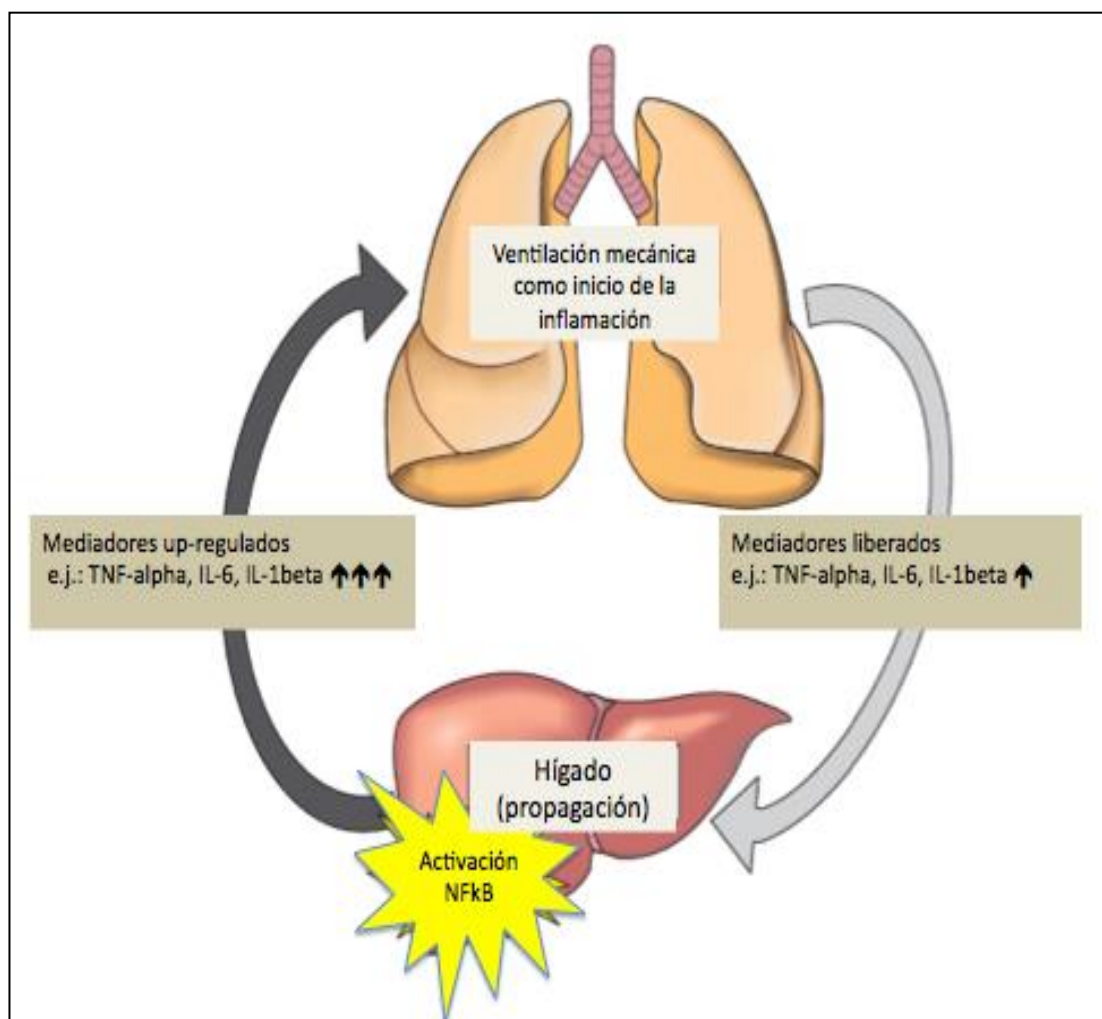
Figura 7. Mecanismos fisiopatológicos propuestos en el desarrollo de DPA y SDRA tras la cirugía de resección pulmonar.

### 3. IMPACTO DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA PULMONAR SOBRE LA RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA

El pulmón no es sólo propenso a la lesión en presencia de respuesta inflamatoria sistémica, si no que es también capaz de amplificarla y perpetuarla en el tiempo. Además, el pulmón, puede ser lesionado por causas directas que afecten al epitelio alveolar y activar una repuesta inflamatoria local, que a su vez puede desencadenar o amplificar una respuesta inflamatoria sistémica. Por lo tanto, el proceso de inflamación pulmonar y sistémica es bidireccional. Estudios previos a nivel experimental han demostrado al daño pulmonar como el origen primario de los mediadores proinflamatorios, que pueden descompartimentalizarse y entrar en la circulación sistémica (Truscott EA, 2010; Walker MG, 2009; Imai Y, 2003). Incluso, se ha demostrado que mediadores derivados del pulmón son capaces de provocar o inducir la expresión de moléculas de adhesión en la superficie hepática tanto directamente como de forma dependiente al volumen corriente utilizado en ventilación mecánica (Walker MG, 2011; Walker MG, 2009; Markovic N, 2009,). En un estudio reciente en 2013, ya se demostraba que los mediadores inflamatorios derivados del pulmón eran definitivamente regulados al alza (up-regulation) por el tejido hepático tanto en modelos experimentales de ventilación mecánica in vivo como in vitro (Patterson EK, 2013). Desde la perspectiva clínica, se ha demostrado que los pacientes ventilados con bajos Vc presentan una reducción en los niveles plasmáticos de mediadores inflamatorios comparados con aquellos ventilados con estrategias convencionales y que dichos niveles se correlacionan con una reducción en la tasa de fallo a nivel de múltiples órganos (Meduri GU, 1995).

Una de las vías de señalización más ampliamente reconocidas por su importancia en la respuesta inflamatoria es *la vía de señalización NFκB*. La activación de NFκB implica la fosforilización de p65 (RelA) y su translocación al núcleo (Hayden MS, 2012), dirigiendo a una cadena de respuestas inflamatorias, incluyendo la regulación al alza de moléculas de adhesión tanto en células endoteliales como en leucocitos y la regulación transcripcional de una amplia serie de citoquinas y quimioquinas (Lawrence T, 2009). En el estudio de Patterson y cols. se presentaba el hallazgo novedoso de un mecanismo NFκB-dependiente de amplificación de citoquinas proinflamatorias por células del tejido hepático secundario a ventilación mecánica (Patterson EK, 2013). Basándose en los resultados de este estudio se puede especular que el daño pulmonar sirve como origen primario en la respuesta inflamatoria sistémica, la señal es prontamente propagada a órganos periféricos debido a un mecanismo de maladaptación en la

respuesta de inflamación sistémica. La inflamación iniciada en el pulmón libera mediadores inflamatorios como TNF-alpha, IL-6, IL-1beta..., los cuales son translocados y transportados a través del sistema circulatoria a órganos distales (hígado, riñón...). Estos órganos amplifican la señal inflamatoria, a través de una vía NFkB-dependiente, dirigiendo a una mayor liberación de mediadores inflamatorios, que retornan al pulmón y a otros órganos periféricos, donde la respuesta inflamatoria aguda es propagada. Por lo tanto, la inhibición de la vía de señalización NFkB-dependiente podría mitigar en parte esta respuesta (Fig. 8)



**Fig. 8. Mecanismo NF-kB-dependiente de amplificación de citoquinas proinflamatorias por células del tejido hepático secundario a ventilación mecánica.**

Estudios clínicos en pacientes con SDRA han demostrado de forma consistente que incrementos en las citoquinas inflamatorias se han relacionado con mayores tasas de resultados adversos (Liu KD, 2007; Agouridakis D, 2002). Una implicación común del DPA/SDRA es el síndrome de disfunción multiorgánico (SDMO), el cual ocurre hasta en el 90% de los pacientes, afectando frecuentemente a riñón e hígado, como se evidencia a través de la

elevación de marcadores bioquímicos como son la creatinina sérica, la alanina aminotransferasa (ALT) y la aspartato aminotransferasa (AST). Esto conduce a que los pacientes con SDRA presenten, como se ha observado en múltiples estudios, una mayor morbi-mortalidad (Brun-Buisson C, 2004; Vincent JL, 2003; Imai Y, 2003; Lefering R, 2002). En experimentación animal con modelos de daño pulmonar, así como en humanos con SDRA, se han documentado incrementos en los niveles de citoquinas inflamatorias (Skerret SJ, 2004; Brackenbury AM, 2004; Matute-Bello G, 2003; Chiumello D, 1999; Ranieri VM, 1999). La ventilación mecánica per se puede activar los componentes de la vía de señalización TLR, en la cual o bien NFkB o bien c-Jun N-terminal Kinasa (c-JNK), dirigen a un aumento en la respuesta inflamatoria (LI LF, 2004; Held HD, 2001). El estrés oxidativo debido al incremento en la activación de los neutrófilos también se propone como un mecanismo de inflamación sistémica (Goode HF, 1995). La apoptosis también ha sido sugerida como un mecanismo en el desarrollo de SDMO (Wesche DE, 2005). En relación a este último concepto, aunque se evidencia que el daño por VM puede dirigir a una apoptosis celular en el epitelio renal y a una disfunción orgánica en modelos animales, los mecanismos precisos involucrados en la progresión de daño pulmonar a disfunción orgánica extrapulmonar actualmente son desconocidos.

Como mecanismo de fallo multiorgánico (FMO) se ha hipotetizado que el VILI puede producir una elevación de mediadores inflamatorios dentro de la circulación sanguínea y, por ende, amplificar el desarrollo de un ambiente sistémico proinflamatorio y, eventualmente, producir efectos perjudiciales en órganos distales (Plotz FB, 2004; Ranieri VM, 2000; Slutsky AS, 1998). Hecho similar al acontecido en el FMO inducido por sepsis, la activación de células endoteliales en órganos distales podría ser esencial en el desarrollo de FMO inducido por la ventilación mecánica (Parillo JE, 1993; Bone RC, 1991). En el estudio experimental de Hageman (Hageman MA, 2009) se demuestra que el estrés alveolar impuesto por la VM induce una activación en el endotelio pulmonar en ratones sanos, medido a través de la expresión de ARNm (ácido ribonucleico mensajero) de E-selectina y VCAM-1. Por lo cual, parece que la activación endotelial inducida por la ventilación mecánica facilita la migración y adhesión de las células activadas del sistema inmune en el tejido pulmonar dañado. Además, dicho estudio también demuestra que la VM no sólo causa una up-regulation de las moléculas de adhesión celular en el pulmón, si no también evoca la síntesis de novo de E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1 en órganos distales al pulmón, como el riñón y el hígado. Los datos de dicho estudio indican que el estrés alveolar debido a VM promueve la activación endotelial, la producción de

mediadores inflamatorios y la presencia de granulocitos en órganos distales, como el riñón y el hígado, aunque no en cerebro. Aunque ya Li (Li LF, 2007) había observado un aumento en la frecuencia de daño pulmonar en ratones en ventilación mecánica con Vc altos e hiperoxia, comparados con aquellos a los que se les sometía a aire ambiente, el estudio de Hageman, por el contrario, no puede excluir la hiperoxia como un agravante en la respuesta inflamatoria pulmonar inducida por el estrés de la VM, considerando que los efectos de altos niveles de PaO<sub>2</sub> sobre el estado inflamatorio hepático y renal no es la principal causa de inflamación en dichos órganos distintos al pulmón (Hageman MA, 2009). Haitisma y cols. y Tutor y cols. ya habían demostrado que la permeabilidad alveolo-capilar inducida por VM causaba una liberación de mediadores inflamatorios dentro de la circulación sistémica (Haitisma JJ, 2000; Tutor JD, 1994).

También se ha hipotetizado que el estrés físico de la VM activa el sistema nervioso simpático (Plotz FB, 2004). En este sentido, Elenkov y cols. y Straub y cols. proponían en sus estudios que la estimulación de los nervios simpáticos terminales evoca una respuesta inflamatoria en órganos distales (Elenkov IJ, 2000; Straub RH, 2000). Las catecolaminas activan la transcripción de factores como NFκB en los macrófagos, promoviendo la producción de IL-1, TNF y IL-8, lo cual a su vez podría desembocar en una respuesta de fase aguda a nivel hepático, posiblemente vía activación alfa-adrenérgica (Flierl MA, 2009; Elenkov IJ, 2000; Spengler RN, 1990). De ahí, que la activación endotelial sistémica e inflamación causada por el estrés alveolar inducido por la VM puede ser explicado por la activación de terminales nerviosas simpáticas en órganos distales al pulmón. Teniendo en cuenta dicho concepto, el bloqueo de los receptores adrenérgicos podría ser en un futuro diana terapéutica para mitigar la respuesta inflamatoria en órganos remotos diferentes al pulmón tras cirugía de resección pulmonar (CRP). También estudios experimentales en ratas bajo ventilación unipulmonar han demostrado un aumento de los niveles de ALT y AST en tejido hepático, así como aumento de la actividad de MDA (malondialdehído) y MPO (mieloperoxidasa) tanto en tejido hepático como en tejido de intestinal (íleon), lo que demuestra los efectos del estrés oxidativo sobre hígado e íleon bajo OLV (Yulug E, 2007).

## C. EFECTO DE LA TÉCNICA ANESTÉSICA SOBRE LA RESPUESTA INFLAMATORIA (SISTÉMICA Y PULMONAR)

La anestesia general junto al estrés quirúrgico pueden producir una grave alteración en la regulación del proceso inflamatorio, lo cual puede provocar o agravar las complicaciones postoperatorias, como son: un incremento en la susceptibilidad a las infecciones, una inadecuada reacción al estrés y una situación mantenida de hipercatabolismo.

Los efectos inmunomoduladores de los fármacos anestésicos han sido estudiados desde hace ya varios años. Dichos efectos son modestos comparados con los producidos por lo que denominamos “estrés quirúrgico” y atribuibles a la cirugía per se. Sin embargo, en pacientes que son sometidos a cirugías donde se prevé una gran respuesta inflamatoria (cirugía mayor) o aquellos con cierta predisposición genética, edad avanzada o morbilidad elevada, los fármacos utilizados en el intraoperatorio pueden llegar a tener una gran relevancia. Además, recientemente se ha observado la intensa relación entre la liberación de citoquinas y la respuesta endocrina, sugiriéndose que existen diferentes agentes anestésicos, como propofol e inhalatorios, que puedan llegar a modificar el balance entre citoquinas pro- y anti-inflamatorias en los pacientes sometidos a diferentes intervenciones quirúrgicas (Dermitzaki E, 2009). Las citoquinas, las hormonas y los neurotransmisores son regulados por el sistema nervioso, el sistema endocrino y el sistema inmune, pudiendo ser estos sistemas orgánicos modulados por los diferentes agentes anestésicos (Fig.9)

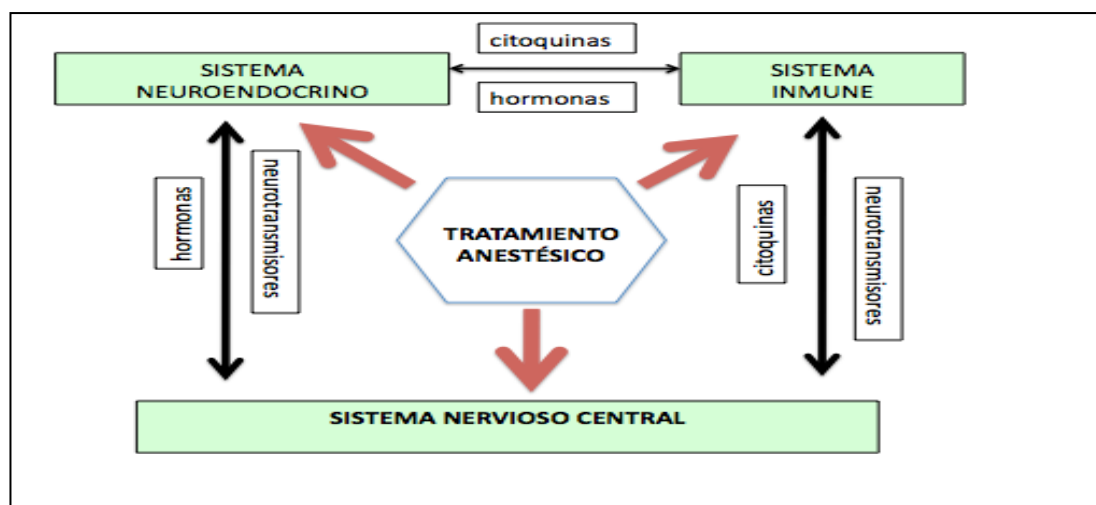


Fig.9. Comunicaciones entre el sistema nervioso central, sistema inmune y sistema endocrino y posible modulación por parte del tratamiento anestésico.

## 1. GASES HALOGENADOS: SEVOFLURANO. GENERALIDADES

El **sevoflurano**, líquido anestésico volátil, obtenido a partir del fluorado del metil-isopropil-éter contiene 7 átomos de flúor (anestésico halogenado). Es el anestésico halogenado de más reciente aparición, estando disponible desde 1995. Como características, es incoloro, no irritante en vía aérea y posee un olor agradable, por lo que puede ser utilizado en la inducción anestésica, siendo especialmente útil en anestesia pediátrica. Su solubilidad no es modificada con la edad. Al igual que otros anestésicos inhalatorios de su misma familia es muy poco hidrosoluble, pero muy liposoluble. Posee un coeficiente de partición sangre/gas de 0,62 (Behne M, 1999). Acorde a su poca solubilidad en sangre, la relación de la concentración alveolar inspirada aumenta súbitamente con la inducción (captación), decreciendo también rápidamente al cesar la administración del gas (eliminación).

La concentración alveolar mínima (CAM) del sevoflurano varía a lo largo de la edad: siendo menor en ancianos y mayor en la población pediátrica. Su valor de CAM es de 2%, que se reduce a la mitad al asociarse con óxido nitroso al 60% (Gilsanz F, 1996).

El sevoflurano posee un punto de ebullición a 58.5°C (grados Celsius), siendo de 157 mmHg (milímetros de mercurio) su presión de vapor, lo que facilita su administración con vaporizadores convencionales (Wissing H, 2000, Kharasch ED, 2000). Es degradado a través de los absorbentes de CO<sub>2</sub> altamente alcalinos, la cal sodada y el Baralyme, dependiendo de la temperatura, en cinco productos denominados: compuestos A, B, C, D y E. A temperatura "normal" o ambiente sólo se producen los compuestos A y B, siendo B un compuesto de degradación del A. A pesar de varios estudios a nivel experimental donde el compuesto A es nefrotóxico, produciendo lesión tubular proximal, en humanos no se relacionado con este tipo de lesión (Patel SS, 1996).

El sevoflurano se elimina a través de la vía pulmonar y renal en forma de metabolitos en un 2-3% en esta última vía. Su metabolismo es hepático a través del citocromo p-4502E1, produciendo como metabolitos más importantes el ion flúor y el hexafluoroisopropanolol.

## Farmacodinámica del Sevoflurano:

- Efectos en sistema nervioso central (SNC): produce una depresión en la actividad electroencefalográfica de manera dosis-dependiente, sin actividad convulsionante. No se produce modificación en la autorregulación cerebral, aunque sí un aumento de la presión intracraneal (PIC), a través del aumento del flujo sanguíneo cerebral y, además, produce una depresión de la función cortical.
- Efectos hemodinámicos y cardiovasculares: posee efecto inótropo negativo (disminuye la contractilidad miocárdica), resultado de la inhibición de la actividad simpática, sin afectación de la parasimpática. No posee efecto cronotrópico, por lo que no modifica la frecuencia cardíaca, mientras que la presión arterial sistémica disminuye en función de la CAM. Asimismo, produce una reducción en el gasto cardíaco (GC) sin modificar las resistencias vasculares sistémicas (RVS). Finalmente, el sevoflurano no sensibiliza el miocardio al efecto de las catecolaminas.

Sevoflurano y vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH): La VPH tiene como objetivo mantener una adecuada PaO<sub>2</sub> a través de una respuesta fisiológica a la hipoxia aguda. La circulación pulmonar responde a la hipoxia con un incremento en las resistencias vasculares pulmonares (RVP), a diferencia de la circulación sistémica que responde con vasodilatación (Benumof JL, 1979). La respuesta se inicia de forma casi inmediata tras el inicio del factor desencadenante de hipoxia, pudiéndose mantener posteriormente incluso minutos u horas (Jensen KS, 1992) en función de la intensidad del estímulo producido (una presión alveolar de 60 mm Hg, sería el umbral para desencadenar dicha respuesta), produciendo una respuesta fisiológica mediante el aumento de la frecuencia respiratoria y de la presión de la arteria pulmonar y con cambios variables en la presión auricular izquierda, la frecuencia cardíaca y el GC (Pirlo AF, 1981). Se ha observado en pulmones aislados e incluso en aquellos trasplantados en humanos, que la VPH se encuentra preservada, lo que nos informa de la independencia de dicha respuesta a mecanismos neurohumorales (Robin ED, 1987). Los sensores a través de los cuales se detecta el decremento en el contenido de oxígeno o presión parcial de oxígeno (pO<sub>2</sub>) son las células musculares lisas, produciendo vasoconstricción inmediata, el glomus del cuerpo carotideo liberando dopamina y los cuerpos neuroepiteliales que secretan serotonina, implicada directamente en la generación de corrientes iónicas a través de las membranas celulares favoreciendo el influjo de calcio y el eflujo de potasio



(Benumof JL, 1981). Por lo tanto, podríamos afirmar que la VPH es un método adaptativo del organismo para redistribuir el flujo de áreas pobremente ventiladas, a otras con mejor ventilación, con el objetivo de mejorar la relación ventilación-perfusión (V/Q) y, por lo tanto, minimizar la hipoxemia. Todavía no están del todo claro los mediadores que generan esta respuesta a nivel celular, además de reseñar que se ha observado cómo en los extremos de hipoxia, la respuesta VPH es ineficiente y los mismos mediadores pueden tener respuestas variables. El sevoflurano parece no alterar dicho mecanismo a nivel del endotelio vascular pulmonar in vivo (Kerbaul F, 2000). Sin embargo, sí se ha demostrado estudios in vitro una inhibición de la VPH concentración dependiente (Ishibe Y, 1993).

- A nivel del aparato respiratorio: el sevoflurano produce depresión respiratoria de forma dosis dependiente. Sin embargo, como se ha comentado anteriormente, posee un olor agradable y no tiene apenas efectos irritativos en vía aérea, por lo que tanto en niños como en adultos, es de elección a la hora de realizar una inducción anestésica inhalatoria.

- Efectos neuromusculares: el sevoflurano potencia el efecto de los relajantes musculares al igual que los demás anestésicos halogenados.

- Efectos a nivel hepático: el sevoflurano apenas reduce el flujo hepático total y, al menos teóricamente, es menos hepatotóxico que el halotano. Varios estudios, como el de Ihtiyar E. y cols., nos indican que la administración de sevoflurano durante la anestesia general no se asocia a una elevación en los niveles de las enzimas hepáticas: AST y ALT (Ihtiyar E, 2006). Al contrario que los halogenados más antiguos (halotano...), el metabolismo del sevoflurano no resulta en la formación de TFA (ácido trifluoroacético); lo que apoya su característica de ser considerado muy poco hepatotóxico (Bito H , 1996; Frink EJ Jr, 1995). Si bien es cierto, dicho pequeño efecto potencial nocivo existe debido a otro producto de su metabolismo, el hexafluoroisopropanolol (HFIP), el cual no se acumula y es degradado rápidamente a través de la biotransformación de fase II hepática, específicamente glucoronidación, para formar HFIP-glucoronido, excretado mayormente en orina en las primeras 12 horas e indetectable a los 2 días de su administración. Por lo tanto, el sevoflurano es considerado como causa improbable de daño hepático postoperatorio grave y es un anestésico ideal para aquellos pacientes previamente expuestos a otros anestésicos halogenados o que presentan hepatopatía previa como se ha recalcado en los últimos años (Mohseni M, 2014; Rahimzadeh P, 2004). De hecho, parece ser el anestésico de elección en

aquellas cirugías de larga duración e incluso en cirugías de trasplante hepático, intervenciones en las cuales cualquier grado de disfunción hepática, aún siendo leve, podría tener efectos perjudiciales graves en los pacientes. Además, existen nuevos estudios que han demostrado que el preconditionamiento con sevoflurano ejerce un efecto protector sobre el daño producido por los fenómenos de isquemia/reperfusión a nivel hepático, lo cual es un hecho frecuente en el perioperatorio de cirugía hepática (Mohseni M, 2014; Zhou SP, 2013; Bedirli N, 2008).

- Efectos a nivel renal: el sevoflurano no modifica el flujo sanguíneo renal (FSR), siempre y cuando la tensión arterial media (TAM) sea superior a 70 mmHg. En cuanto a su posible nefrotoxicidad, que se ha observado en experimentación animal, señalar que a pesar de detectar niveles elevados de flúor en pacientes anestesiados, se sabe que la nefrotoxicidad por flúor no se relaciona con los valores pico sino con la superficie bajo la curva de los niveles plasmáticos de flúor. Como se ha mencionado, el sevoflurano se elimina rápidamente por vía respiratoria, por lo que su metabolización es menor y, por tanto, la superficie de dicha curva es más pequeña (Gilsanz, 1996).

## **2. EFECTOS ANTIINFLAMATORIOS DE LOS ANESTÉSICOS: SEVOFLURANO Y PROPOFOL**

Recientemente en 2015, Sun B y cols. realizaban un meta-análisis publicado en Cochrane, sobre los efectos protectores pulmonares de la anestesia inhalatoria en comparación con la intravenosa, mediante propofol, en el contexto de cirugía torácica con OLV, en el que se encontraban analizados todos aquellos estudios clínicos aleatorizados publicados hasta ese momento (Sun B, 2015). La conclusión de dicho meta-análisis se resume en que existe todavía poca evidencia en relación a discernir el pronóstico de los pacientes sometidos a CRP con anestésicos inhalatorios versus propofol. Por el contrario, los autores sí que estimaban como suficiente la evidencia para comparar entre estos dos grupos la respuesta inflamatoria pulmonar producida.

Schilling y cols., en 2007, publicaban el primer trabajo que demostraba que la anestesia inhalatoria mediante el anestésico inhalatorio desflurano producía una mayor disminución en la respuesta inflamatoria pulmonar, mediante el decremento en la expresión de IL-8, ICAM-1 y elastasa, cuando era comparado con propofol (Schilling, 2007). Posteriormente,

en 2011, comparando desflurano, sevoflurano y propofol, observaba una disminución en las citoquinas proinflamatorias pulmonares en los grupos tratados con ambos anestésicos inhalatorios (Schilling T, 2011). Anteriormente, De Conno y cols. en 2009 valoraban el efecto del sevoflurano, demostrando un aumento de IL-1, IL-6, IL-8, TNF-alpha y MCP-1 a nivel pulmonar en grupo propofol comparado con el grupo sevoflurano en los pacientes sometidos a OLV con parámetros ventilatorios protectores (De Conno, 2009). Como estudios más recientes, Sugawara y cols. y Hammoud y cols. demuestran una atenuación de la respuesta inflamatoria a través de la determinación de diferentes citoquinas, incluyendo IL-6, en el lavado broncoalveolar en pacientes sometidos a OLV y anestesiados con sevoflurano, cuando fueron comparados con el grupo propofol (Hammoud S, 2013; Sugawara Y, 2012). Ya en 2014, el trabajo de Potočník demuestra un aumento significativo en los niveles sanguíneos de IL-6 en el grupo propofol versus grupo sevoflurano en pacientes sometidos a CRP, siendo también mayores pero no significativos para IL-8 (Potočník I, 2014).

Dicha modulación a través de los anestésicos, también puede afectar a las reacciones inmunológicas e inflamatorias mediante la alteración de las vías de comunicación intracelular, modificando durante el propio perioperatorio la respuesta de las citoquinas. No obstante, en cirugía pulmonar aún existe cierta discrepancia a la hora de poder valorar la magnitud de los efectos de dichos agentes anestésicos sobre la respuesta inflamatoria pulmonar (Schilling T, 2011).

En relación a los anestésicos inhalatorios ha sido ampliamente demostrado que pueden llegar a ejercer un efecto cardioprotector y de atenuación de la lesión cardíaca durante procesos de isquemia-reperfusión (Tanaka K, 2004), como demuestra recientemente Wojtovich que es debido a la estimulación de los canales celulares de transporte de potasio (Wojtovich AP, 2016). Así como ejercer efectos antiinflamatorios y anti-apoptóticos contra el daño producido durante los fenómenos de reperfusión a nivel renal (Lee HT, 2006), cerebral (Lin HF, 2009) y hepático (Beck-Schimmer B, 2008). También poseen efectos inhibitorios sobre los neutrófilos y linfocitos in vitro, al igual que sobre la liberación de citoquinas desde las células mononucleares (Tabla 9). Además, influyen en la expresión de la isoenzima inducible de NO (iNOS), a través de la inhibición reversible de los canales calcio-voltaje-dependientes y por la disminución en la concentración de calcio intracelular.

A nivel pulmonar, en estudios experimentales de DPA inducido tras la administración de endotoxinas, se ha comprobado que el sevoflurano ejerce cierto efecto protector pulmonar debido a una atenuación en la expresión de ciertos mediadores inflamatorios, menor reclutamiento leucocitario, menor adhesión de neutrófilos a las células epiteliales alveolares y a una menor muerte celular (Yu T, 2008; Suter DR, 2007; Reuterhaus A, 2006,). En modelos de SDRA, se observa que el sevoflurano atenúa la respuesta inflamatoria pulmonar y mejora la oxigenación en mayor grado que en aquellos animales que fueron tratados con propofol (Ferrando C, 2013; Takala I, 2006). Nuestro grupo de investigación también ha demostrado en modelos experimentales con cerdos, el efecto protector del sevoflurano como preconditionamiento anestésico para el daño por isquemia-reperfusión en cirugía de resección y autotrasplante pulmonar (Casanova J, 2011).

Con respecto al propofol, también ha demostrado tener una actividad antioxidante, tanto in vivo como in vitro, en fenómenos de isquemia reperfusion (Ansley DM, 1998). Se piensa que dicho efecto puede ser debido a su similitud química con la vitamina E (Murphy PG, 1992), a través de la eliminación de peroxidonitritos (Kahraman S, 1997) o mediante la influencia sobre el sistema enzimático del glutatión, produciendo una disminución en la actividad de la glutatión peroxidasa y un aumento de la glutatión reductasa y transferasa, lo que produciría un aumento de las defensas antioxidantes celulares al aumentar los depósitos de glutatión reducido (De la Cruz, 1998). Así, diversos estudios han demostrado que el propofol, actúa mediante la eliminación de ERO, disminuyendo la peroxidación lipídica y aumentando la capacidad antioxidante en diferentes órganos como son el pulmón, corazón, hígado y riñón (González-Correa JA, 2008; Cavalca V, 2008; Kahraman S, 1997). Además, al igual que el sevoflurano, el propofol también posee un efecto inmunomodulador de la respuesta inflamatoria con efecto antiinflamatorio como puede observarse en el estudio de Gilliland y cols. en cirugía abdominal, donde se asociaba a un aumento de los niveles plasmáticos de IL-10 (Guilliland HE, 1997).

A nivel pulmonar, en modelos animales se ha demostrado que el propofol se asocia a una disminución en la respuesta antiinflamatoria y antioxidante evitando la apoptosis en las células alveolares (Wei H, 2008), así como una mejoría en la disfunción pulmonar tras circulación extracorpórea (Moore KW, 2001), hecho que también se demuestra mediante el mantenimiento anestésico de sevoflurano a través de la disminución de los niveles locales de neutrófilos y citoquinas proinflamatorias (Cho EJ, 2009).

Específicamente, a nivel hepático se han desarrollado múltiples estudios en los últimos años sobre la influencia de ambos anestésicos, sevoflurano y propofol, en cirugía de resección hepática y, en particular, sobre el síndrome de esquema-reperfusión con resultados dispares. Como en el caso de la cirugía de resección pulmonar con OLV también en cirugía de hepatectomía se realizó un meta-análisis publicado en Cochrane sobre la influencia que las intervenciones farmacológicas pudieran tener sobre la atenuación del síndrome de isquemia-reperfusión, cuya conclusión fue no observar diferencias al comparar sevoflurano vs propofol, dando como posible explicación un alto riesgo de sesgo y bajo número de pacientes en la mayoría de los estudios realizados hasta esa fecha (Abu-Amara, 2009). A favor del sevoflurano, ya se ha comentado anteriormente el trabajo de Beck-Schimmer y cols., estudio prospectivo randomizado controlado sobre 74 pacientes sometidos a hepatectomía, donde se realizaba compresión vascular o maniobra de Pringle durante la misma y se comparaba el efecto del preconditionamiento anestésico con o sin sevoflurano realizado 30 minutos previo a dicha maniobra sobre el síndrome de isquemia-reperfusión. Observaban que los pacientes que se sometían a preconditionamiento anestésico con sevoflurano presentaban menor tasa de complicaciones y menor nivel de transaminasas en el postoperatorio, que aquellos a los que no se realizaba dicho preconditionamiento y se continuaba con propofol como mantenimiento anestésico. Además, observaban que el subgrupo de pacientes con esteatosis hepática grave serían los más beneficiados de dicho preconditionamiento (Beck-Schimmer 2008). Años más tarde, la misma autora realizaba un nuevo estudio similar sobre 115 pacientes sometidos a cirugía hepática con maniobra de Pringle, con al menos 30' de duración, divididos en 3 grupos de estudio: control con propofol, control propofol más preconditionamiento isquémico y grupo con postcondicionamiento isquémico con sevoflurano >30' tras realizar isquemia y una vez suspendido propofol. Observaba en dicho estudio que aquellos pacientes a los que se realizaba preconditionamiento isquémico y postcondicionamiento con sevoflurano presentaban menores niveles de transaminasas en el postoperatorio y menor tasa de complicaciones, no quedando claramente dilucidado la comparación entre ambos, pre y postcondicionamiento (Beck-Schimmer, 2012). Por otra parte, encontramos varios estudios donde comparaban sevoflurano vs propofol sobre su posible atenuación de la lesión hepática post-síndrome isquemia-reperfusión y no se observaban diferencias significativas en ambos grupos, tanto en los análisis bioquímicos como en la tasa de complicaciones en los pacientes sometidos a hepatectomía (Rodríguez, 2015; Slankamenac, 2012; Song, 2010). Concretamente representativo es el estudio de Rodríguez y cols., estudio prospectivo aleatorizado con 106 pacientes, donde los pacientes eran sometidos a hepatectomía y maniobra de Pringle de 10

minutos seguidos de reperusión de 10 minutos y administración de sevoflurano 20 minutos antes de la resección hepática, no encontrando diferencias significativas al comparar sevoflurano vs propofol en las variables obtenidas (bilirrubina, transaminasas, ácido hialurónico e histología hepática).

Célula inmune/citoquina	Sevoflurano	Propofol
<b>Neutrófilos</b>	<i>Disminuye su conteaje y la adhesión celular. Disminuye la liberación de citoquinas (IL-1beta, TNF-alpha, IL-6, IL-8 e IL-10). Preserva la supresión inmune por NO</i>	<i>Aumenta su conteaje, aunque disminuye la función fagocítica y el “estallido respiratorio”</i>
<b>Monocito/Macrófago (PMN)</b>	<i>Disminuye su conteaje</i>	<i>Disminuye la función fagocítica y el “estallido respiratorio”</i>
<b>Linfocitos</b>	<i>Disminuye su conteaje</i>	<i>Disminuye su conteaje</i>
<b>Células Natural Killer (NK)</b>	<i>Aumenta su conteaje, aunque disminuye su citotoxicidad y la liberación de citoquinas (TNF-alpha).</i>	<i>Aumenta su conteaje, aunque disminuye su actividad citotóxica</i>
<b>Linfocitos T CD4</b>	<i>Disminuye su conteaje. Aumenta Th2, disminuye Th1</i>	<i>Aumenta su conteaje. Disminuye Th1</i>
<b>Linfocitos T CD8</b>	<i>Disminuye su conteaje. Promueve la inmunidad celular</i>	<i>Disminuye su conteaje</i>
<b>Linfocitos B</b>	<i>Aumenta la respuesta inmune primaria y secundaria. Disminuye su conteaje</i>	-----
<b>Plaquetas</b>	<i>Incrementa la adhesión plaquetaria inmune</i>	
<b>IL-1beta</b>	<i>Disminuye sus niveles plasmáticos</i>	<i>Disminuye sus niveles plasmáticos</i>
<b>IL-6</b>	<i>Aumenta/disminuye sus niveles plasmáticos</i>	<i>Aumenta sus niveles plasmáticos</i>
<b>IL-8</b>	-----	<i>Aumenta sus niveles plasmáticos</i>
<b>IL-10</b>	<i>Aumenta/disminuye sus niveles plasmáticos</i>	<i>Aumenta sus niveles plasmáticos</i>
<b>TNF-alpha</b>	<i>Aumenta/disminuye sus niveles plasmáticos</i>	<i>Disminuye sus niveles plasmáticos</i>
<b>IL-2</b>	-----	<i>Disminuye su producción</i>
<b>Interferon-gamma</b>	<i>Disminuye sus niveles plasmáticos</i>	<i>Aumenta sus niveles plasmáticos</i>
<b>TGF-beta</b>	<i>Aumenta/disminuye sus niveles plasmáticos sus niveles plasmáticos</i>	-----

**Tabla.9. Efectos del sevoflurano y propofol sobre distintas células del sistema inmune y citoquinas pro- y antiinflamatorias** (Cocelli LP, 2012; Schneemilch CE, 2005; Zura M, 2012; Stollings ML, 2016)

AUTOR/REFERENCIA	SUJETO DE ESTUDIO	DISEÑO ESTUDIO	VARIABLES ESTUDIADAS	RESULTADOS
CROZIER TA, 1994	Pacientes sometidas a histerectomía abdominal	A: isoflurano+N <sub>2</sub> O B: propofol/alfentanilo	IL-1beta, IL-6, cortisol y prolactina en plasma	El grupo propofol presenta menor concentración plasmática de IL-6
PIRTTIKANGAS CO, 1995	Pacientes sometidas a histerectomía abdominal	A: isoflurano B: propofol	IL-6 en plasma	No diferencias significativas entre ambos grupos
GILLILAND HE, 1997	Pacientes sometidas a histerectomía abdominal	A: isoflurano B: propofol	TNF-alpha, IL-6, IL-10 e IL-1ra en plasma	Mayores niveles de IL-10 en grupo propofol (p<0.02), sin diferencias significativas en las demás variables
DELOGU G, 1999	Pacientes sometidos a colecistectomía laparo/abierta	A: isoflurano B: propofol	TNF-alpha e IL-6 en plasma	No diferencias entre ambos grupos
EL AZAB SR, 2002	Pacientes sometidos a cirugía cardíaca (by-pass coronario)	A: sevoflurano B: propofol/alfentanilo	TNF-alpha, IL-6 e IL-8 en plasma	Mayores niveles de IL-6 en grupo sevoflurano al comenzar by-pass cardiopulmonar, sin diferencias en postoperatorio.
SCHNEEMILCH CE, 2005	Pacientes sometidos a discectomía parcial mínimamente invasiva	A: sevoflurano + N <sub>2</sub> O B: propofol	IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, IFN-γ, TGF-beta, cortisol, epinefrina y norepinefrina en plasma	IL-6 significativamente mayor en grupo sevo+N <sub>2</sub> O
SÁNCHEZ-CONDE P, 2008	Experimental con cerdos sometidos a by-pass aorto-aórtico. Clampaje de 30'	A: sevoflurano B: propofol	Creatinina, mieloperoxidasa, TNF-alpha, IL-1beta en plasma. Anión superóxido renal y dismutasa superóxido. iNOS y NFκB en tejido renal.	En grupo propofol, concentraciones significativamente menores de mieloperoxidasa, TNF-alpha, IL-1beta, anión superóxido y dismutasa superóxido (P<0.05) y disminución en la expresión de NFκB e iNOS (P < 0.05).
OROSZ JE, 2012	Pacientes sometidos a timpanoplastias y septoplastia	A: sevoflurano B: propofol	IL-1beta, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF-alpha e INF-γ en plasma	No diferencias significativas, salvo en IL-6 en día 1 postquirúrgico en ambos grupos con respecto a determinación basal
KVARNSTRÖM AL, 2012	Pacientes sometidos a cirugía colorrectal	A: sevoflurano/fentanilo B: propofol/remifentanilo	IL-1beta, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10. C3a y SC5b-9 en plasma	No diferencias significativas entre ambos grupos
KUMAKURA S, 2013	Pacientes sometidos a mastectomía	A: sevo y N <sub>2</sub> O B: sevo y aire C: propo y N <sub>2</sub> O D: propo y aire	IL-1beta, IL-8, MCP-1. IL-12p70 en epitelio vía aérea (broncoscopia)	Sevo+N <sub>2</sub> O induce respuesta inflamatoria (aumento de IL-1beta, IL-8 y MCP-1) y disminuye la respuesta anti-inflamatoria (IL-12p70). El N <sub>2</sub> O bloquea la modulación de la respuesta inflamatoria sistémica por sevoflurano
IONESCU DC, 2013	Pacientes sometidos a colecistectomía laparoscópica	A: isoflurano B: propofol	IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, ICAM-1 y VCAM-1 en plasma	Disminución significativa en la elevación de IL-6 en grupo propofol. Aumento de IL-10, ICAM-1 y VCAM-1 en dicho grupo, aunque no significativo
SOFRA M, 2013	Pacientes sometidos a cistectomía radical	A: sevoflurano/fentanilo B: propofol/remifentanilo	IL-1β, IL-2, IL-6, IL-10, TNF-alpha e INF-γ en plasma. Células T reguladoras en plasma	Aumento de IFN-γ en el grupo propofol y disminución 30% de células T reguladoras en grupo sevo. Resto sin diferencias significativas
YIN Y, 2013	Pacientes sometidos a lobectomía inferior izquierda	A: sevoflurano B: propofol	TNF-alpha, IL-6 e IL-10 en plasma	Mayores valores de TNF-alpha e IL-6 y menores de IL-10 en grupo sevoflurano
POTOENIK I, 2014	Pacientes sometidos a cirugía pulmonar abierta	A: sevoflurano B: propofol	IL-6, IL-8, IL-10, PCR y procalcitonina en plasma	Aumento significativo de IL-6 en grupo propofol y de PCR en el postoperatorio grupo propofol.
RANCAN L, 2014	Experimental con cerdos sometidos a autotrasplante pulmonar de lóbulo izquierdo	A: sevoflurano B: propofol	TNF-alpha, IL-1beta IL-10, MCP-1, NF-κB y caspasa 3 en plasma y tejido hepático	Sevoflurano disminuye significativamente los niveles de TNF-alpha, IL-1beta, MCP-1, NFκB y caspasa 3 y bloquea la disminución de IL-10
MARGARIT SC, 2014	Pacientes sometidos a cirugía colorectal	A: isoflurano B: propofol	IL-6 e IL-10 en plasma	No diferencias significativas entre ambos grupos
NAKANUNO R, 2015	Pacientes sometidos a esofagectomía abierta	A: sevoflurano B: propofol	Proteína C reactiva (PCR) en plasma	El grupo propofol muestra menor pico en los valores de PCR
QIAO Y, 2015	Pacientes sometidos a esofagectomía por Ca esófago	A: sevoflurano B: metilprednisolona+sevo C: propofol	Proteína S-100β, TNF-alpha and IL-6 en plasma. Disfunción cognitiva postoperatoria (Mini-mental state examination (MMSE))	El grupo sevo presenta mayor concentración en plasma de Proteína S-100β, TNF-alpha and IL-6 en plasma y mayor disfunción cognitiva postoperatoria
LINDHOLM EE, 2015	Pacientes sometidos a cirugía de aorta abdominal abierta	A: sevoflurano B: propofol/remifentanilo	MCP-1, MMP-9, PCR, VCAM-1, IL-6 e IL-8 en plasma	Menores niveles de IL-8 y MCP-1 y mayores de IL-6 y MMP-9 en grupo sevoflurano. PCR y V-CAM1 sin diferencias.
HADADE A, 2016	Pacientes sometidos a colecistectomía laparoscopia	A: propofol B: isoflurano	IL-32 y TNF-alpha en plasma	No diferencias significativas entre ambos grupos
MARKOVIC-BOZIC J, 2016	Pacientes sometidos a craneotomía	A: sevoflurano B: propofol	IL-6, IL-8 e IL-10 en plasma	Mayor concentración de IL-10 y menor ratio IL-6/IL-10 en grupo propofol. IL-8 sin diferencias

**Tabla.10. Estudios clínicos y experimentales realizados con el objetivo de comparar anestésicos inhalatorios (isoflurano y sevoflurano) vs. propofol con respecto a la respuesta inflamatoria sistémica.**

# **HIPÓTESIS. OBJETIVOS**



## **A. HIPÓTESIS**

La ventilación unipulmonar realizada para determinados procedimientos quirúrgicos no sólo afectará el funcionamiento del órgano, sino que también producirá una respuesta inflamatoria sistémica debido a la liberación de mediadores proinflamatorios al torrente sanguíneo. La utilización de anestesia inhalatoria con sevoflurano podría tener un efecto protector, modulando esta respuesta.

## **B. OBJETIVO GENERAL**

Investigar la respuesta inflamatoria hepática secundaria a la cirugía de resección pulmonar y determinar la contribución de la ventilación unipulmonar a esta respuesta. Además, se ha investigado el papel protector del mantenimiento anestésico con sevoflurano modulando dicha respuesta.

## **C. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar la expresión hepática y los niveles plasmáticos de mediadores pro-inflamatorios, en respuesta a la cirugía de resección pulmonar con ventilación unipulmonar.
2. Determinar si estos cambios van acompañados por modificaciones en el grado de apoptosis a nivel hepático.
3. Determinar si estos cambios van acompañados por alteraciones del glicocáliz.
4. Determinar un posible efecto beneficioso del sevoflurano sobre los parámetros indicados anteriormente.

# MATERIAL Y MÉTODOS

# 1. MATERIAL

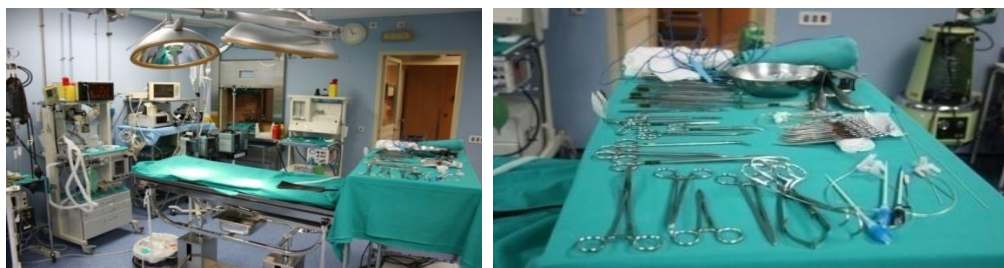
## 1.1. MATERIAL BIOLÓGICO: ANIMALES

Se utilizaron 20 cerdos adultos de raza Mini-pig con peso de 35-45 kg. El traslado de los animales a las instalaciones de la UMCE (Unidad de Medicina y Cirugía Experimental) se realizó 24 h antes del procedimiento quirúrgico, en una jaula individual en la que el animal permaneció hasta el momento de la intervención. El animalario dispone de unas condiciones ambientales controladas a 20-22 °C de temperatura y humedad relativa del 55%.

El estudio se realizó con la autorización del Comité de Investigación y Experimentación Animal del Centro y en todos los experimentos se realizó la verificación en el cumplimiento de la normativa europea y española respecto a la manipulación y cuidado de animales de experimentación. El manejo de los animales se ha realizado siguiendo la normativa legal según el Real Decreto 1201/2005 para la Protección de los Animales utilizados para experimentación y otros fines científicos (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación) que incorpora las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los estados miembros de la CEE, de la Directiva del Consejo 86/609/CEE (Leg. CC.EE. 4390) aprobada el 24 de Noviembre de 1996.

## 1.2. QUIRÓFANO E INSTALACIONES

Todas las experiencias fueron realizadas en el quirófano de la unidad de cirugía experimental del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Dicho quirófano incluye dos mesas quirúrgicas, cuatro lámparas quirúrgicas de alta intensidad (2 por mesa) y equipo de instrumental quirúrgico estándar, así como material de micro-cirugía y específico de cirugía torácica.



**Ilustraciones 1a y 1b.** Instalaciones Unidad de Cirugía Experimental HUGM y material quirúrgico

En cuanto al material anestésico, el quirófano está equipado con un respirador modelo Servo 900C (Siemens®, Germany), Capnógrafo Ohmeda 5250 RGM (General Electric Health Care, USA), analizador de Gases GEM Premiere 5000, Monitor PiCCO plus® (Pulsion Medical System) y desfibrilador con palas Externas e Internas life pulse (HVE, Miami, USA).



**Ilustración 2.** Capnógrafo Ohmeda 5250 RGM



**Ilustración 3.** Monitor PiCCO plus®



**Ilustración 4.** Respirador Siemens Servo 900c



**Ilustración 5.** Analizador de gases GEM Premiere 5000

Material fungible y sistemas de monitorización empleados:

- Tubo endotraqueal: Para la intubación orotraqueal se utilizó un tubo estándar del nº 6-7 dependiendo del peso del espécimen, modelo Murphy con balón.
- Catéteres vasculares: Se emplearon para canalizar arteria y vena femorales (7 Fr), mediante técnica de Seldinger, previa disección anatómica por planos.

La monitorización consistió en electrocardiograma (ECG) de 3 derivaciones, pulsioximetría, capnografía, presión arterial invasiva y presión venosa central. Mediante el monitor PiCCO plus® se midieron los siguientes parámetros hemodinámicos: el gasto cardíaco (GC), la precarga (volumen diastólico final indexado o global end diastolic (GED), postcarga

(RVS: resistencias vasculares sistémicas), contractilidad miocárdica (dp max), edema pulmonar a través del agua vascular extrapulmonar (ELW-extravascular lung water), rendimiento cardíaco (relación entre el volumen diastólico final y el gasto cardíaco) y respuesta a fluidos y estado de volemia (VVS: variación volumen sistólico), tanto en valores absolutos como indexados conforme al peso y altura del animal (cálculo de superficie corporal).

## **2. MÉTODOS**

### **2.1. PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO**

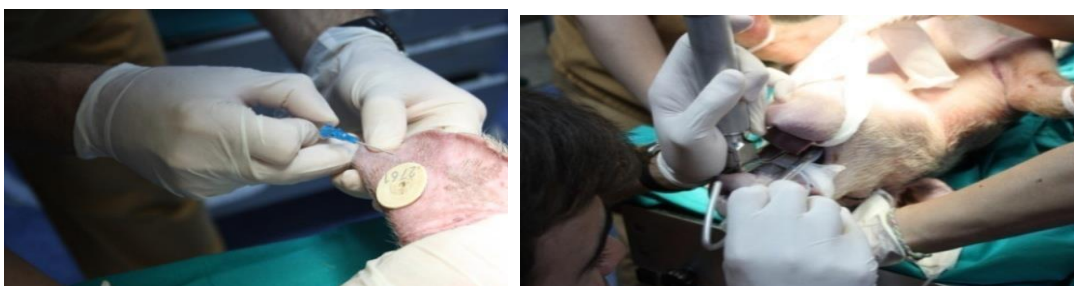
El procedimiento consistió en la realización de una cirugía de resección pulmonar (lobectomía inferior izquierda) con ventilación unipulmonar contralateral durante un periodo de 120 minutos y supervivencia de 24 horas.

Primeramente, se colocó al animal en decúbito lateral derecho y se procedió a la limpieza de la zona quirúrgica con povidona iodada y su aislamiento mediante campo quirúrgico estéril. Tras toracotomía izquierda, se realizó la incisión del parénquima pulmonar a través de la cisura interlobar, identificando y ligando vena, arteria y bronquio caudales. Completada la lobectomía inferior izquierda y tras 120 minutos de ventilación unipulmonar (OLV120) se mantuvo al animal con ventilación bipulmonar durante 60 minutos (2LV60). Posteriormente, tras realizar las determinaciones que se señalan posteriormente, y una vez reiniciada la ventilación bipulmonar se revisó la expansión del lóbulo superior y la estanqueidad de la sutura bronquial, procediéndose al cierre por planos de la toracotomía, dejando un tubo de drenaje intrapleural conectado a un sistema de flujo unidireccional (válvula de Heimlich). A las 24 horas del postoperatorio el animal fue trasladado nuevamente al quirófano. Con el mismo protocolo anestésico, se procedió a realizar: estudios gasométricos y hemodinámicos, extracción de sangre para estudios bioquímicos y biopsia hepática mediante laparotomía media subxifoidea.

En los grupos SHAM-A y SHAM-B se realiza el mismo protocolo (incluida la toracotomía) salvo lobectomía, asociando ventilación unipulmonar en el grupo SHAM-B.

## 2.2. PROCEDIMIENTO ANESTÉSICO

Todos los cerdos permanecieron en ayunas para alimentos sólidos 18 horas antes de la intervención, permitiendo el consumo libre de agua hasta el momento de la cirugía. Quince minutos antes del comienzo de la inducción se les administró como premedicación ketamina (Ketolar®, Parker Davis, Pfizer, Dublin, Ireland) intramuscular a 10 mg/kg de peso. A continuación y una vez trasladado a la mesa quirúrgica, se canalizó una vía periférica, preferiblemente la vena marginal del dorso de la oreja, con un catéter venoso periférico del calibre 20 ó 22 G (abbocath®). Se realizó preoxigenación y desnitrogenación a los animales con oxígeno al 100% administrado mediante mascarilla oro-facial durante 2 ó 3 minutos. La inducción anestésica se llevó a cabo con fentanilo (Fentanest®, Kern Pharma, Houston, TX) a 3 µg/kg, propofol al 1% (Diprivan®, AstraZeneca, Macclesfield, Cheshire, UK) a 3-4 mg/kg y atracurio (Tracrium®, GlaxoSmithKline) a 0,4-0,5 mg/kg. También, se administró una dosis intramuscular de penicilina benzatina (600.000 UI IM) antes de la intervención quirúrgica, como profilaxis antibiótica. La intubación se realizó por boca con un tubo orotraqueal hasta 3 cm sobre carina traqueal, respetando ostium del bronquio traqueal para posteriormente progresar dicho tubo a bronquio principal derecho en el momento de la toracotomía y apertura de pleura izquierda, manteniéndose ventilación unipulmonar, siendo comprobado su colocación idónea mediante fibrobroncoscopia (fibrobroncoscopio flexible Olympus®).



**Ilustraciones 6a y 6b.** Momento de la canalización de vena periférica e intubación orotraqueal (IOT)

A continuación se inició la ventilación mecánica con un respirador Siemens®, modelo Servo 900C, ajustado con los siguientes parámetros acordes a una ventilación de protección pulmonar: ventilación controlada por volumen, con un volumen corriente ( $V_c$  o  $V_t$ ) de 6 ml/kg, 12 respiraciones por minuto, relación entre inspiración y espiración de 1:2 y PEEP de 5 cm H<sub>2</sub>O. Estos parámetros se modificaron a lo largo de la cirugía con la finalidad de mantener un nivel de CO<sub>2</sub> en sangre arterial (PaCO<sub>2</sub>) entre 35 y 40 mmHg de CO<sub>2</sub>, ajustando frecuencia

respiratoria y manteniendo volúmenes corrientes bajos ( $< 6-7$  ml/kg). La  $FiO_2$  se mantuvo en 0.6 de fracción inspirada de oxígeno y se monitorizó la presión pico, media y compliancia de forma continua durante todo el experimento. La ventilación unipulmonar se mantuvo durante 120 minutos, después el tubo orotraqueal se retiró a su posición inicial verificada mediante fibrobroncoscopio.

En relación a los vasos femorales, se disecó el paquete vasculo-nervioso de modo quirúrgico, aislando a continuación cada uno de los vasos (arteria y vena femorales) e introduciendo un catéter vascular (Arrow-Howes®) 7 French por el método de Seldinger. A través de los mismos se introdujo un catéter trilumen por la vía venosa y un catéter de termodilución PiCCO (PV2014L16 arteria femoral de adulto pequeño con diámetro 4 French y longitud de 160 mm) a través de la vía arterial.



**Ilustración 7.** Canalización quirúrgica de arteria y venas femorales.

Durante el procedimiento la anestesia se mantuvo con propofol 2% (Diprivan®, AstraZeneca, Macclesfield, Cheshire, UK) en perfusión continua (8-10 mg/kg/h) en los grupos: CONTROL, SHAM A Y SHAM B, y mediante sevoflurano en el grupo SEVOFLURANO (Sevorane®, Abbott laboratories, Madrid, Spain) al 2% mediante el dispositivo AnaConDa™ (Sedana Medical, Upsala, Sweden) durante todo el procedimiento. Además, se empleó fentanilo y atracurio en bolos, según necesidades. Se mantuvo como fluidoterapia una perfusión de solución intravenosa de ringer lactato a 5 ml/kg/h, y una sustancia coloide, hidroxietil almidón 130/0,4 (Voluven® 6%, Fresenius Kabi, Germany) según requerimientos a través de su administración en bolos. Una vez el equipo quirúrgico comenzó el cierre por planos de la caja y pared torácica se detuvo el mantenimiento anestésico, bien propofol bien sevoflurano, despertando posteriormente al animal y, una vez, comprobado una correcta

ventilación espontánea (frecuencia respiratoria en rango normal y oxigenación correcta), se procedió a la extubación del animal. En el postoperatorio se administró como protocolo analgésico, Ketorolaco 30 mg (Droal®, Vita S.A., La Paz, Bolivia) intramuscular, y se dejó acceso libre al agua.

A las 24 horas del postoperatorio, el animal fue trasladado nuevamente al quirófano donde se volvió a realizar una inducción anestésica de las mismas características. El mantenimiento anestésico se realizó en este caso con propofol en perfusión continua en los 4 grupos. A la finalización del procedimiento con la recogida de muestras, el animal fue sacrificado tras la administración de un bolo de propofol de 2 mg/kg para conseguir un plano profundo de hipnosis y la administración de cloruro potásico para la inducción de cardioplejia.

### **2.3. GRUPOS EXPERIMENTALES**

Los animales se dividieron aleatoriamente en 4 grupos experimentales de 5 animales por grupo (Microsoft Excel 2003, Seattle, WA).

1. GRUPO CONTROL: Se realizó el protocolo quirúrgico y anestésico, mantenimiento anestésico con propofol.

2. GRUPO DE TRATAMIENTO CON SEVOFLURANO: Se realizó el protocolo quirúrgico de los controles. Además, se ventiló bajo mantenimiento anestésico inhalatorio con sevoflurano al 2% durante todo el procedimiento.

3. SHAM A: corresponde al grupo de cirugía simulada con toracotomía, pero sin la realización de resección pulmonar ni OLV. Inducción y mantenimiento anestésico con propofol.

4. SHAM B: No se realizó resección pulmonar, pero sí OLV (sí toracotomía). Inducción y mantenimiento anestésico con propofol. Inducción y mantenimiento anestésico con propofol.



## 2.4. PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS

Gasometría arterial: muestras en 5 momentos diferentes: basal, tras 30' de ventilación unipulmonar (30 OLV), a los 120' de ventilación unipulmonar (120 OLV), 60' tras reiniciada la ventilación bipulmonar (60 2LV) y a las 24 horas tras la lobectomía (24 horas).

Sangre: muestras de 5 ml de sangre en los momentos mencionados, menos en el tiempo 30 OLV. Las muestras serán centrifugadas y el suero sobrenadante conservado a  $-40^{\circ}\text{C}$ .

Tejido hepático: Cada una de las muestras hepáticas fue introducida en un criotubo procediendo a su inmediata congelación en nitrógeno líquido. Las muestras son almacenadas en un congelador que las mantiene a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis bioquímico.

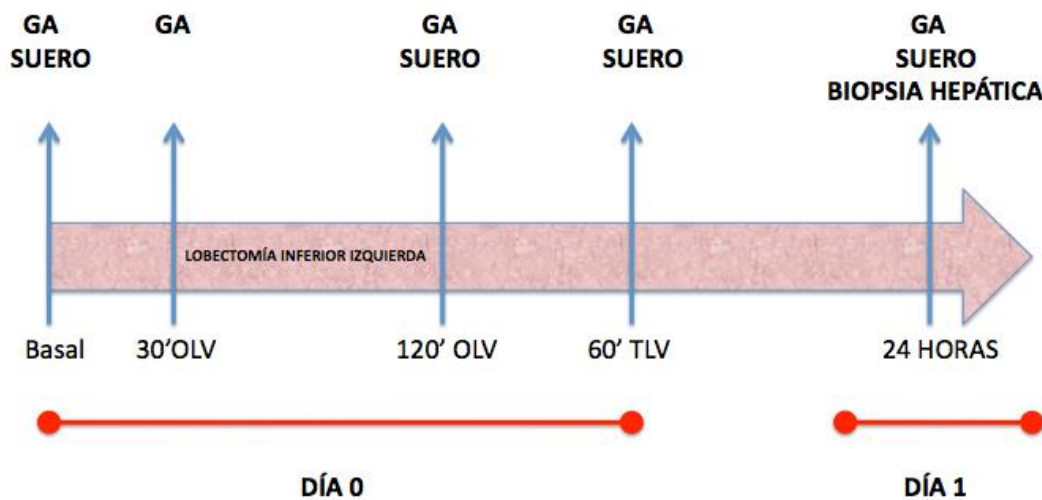


Fig. 10. Representación temporal del experimento con los puntos de obtención de los diferentes parámetros y muestras. GA: gasometría arterial, OLV: ventilación unipulmonar, TLV: ventilación bipulmonar

## 2.5. DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS

- Niveles plasmáticos de Citoquinas (TNF-alpha, IL-1) y componentes del glicocáliz (Heparán Sulfato, Cathepsina B, Syndecan-1): Se midieron mediante un método inmunoenzimático utilizando Kits de ELISA comerciales específicos para cerdos (Cusabio Biotech Co Ltd, China).

El fundamento de este método se basa en la unión específica de la proteína contenida en la muestra a anticuerpos monoclonales específicos inmovilizados sobre la superficie de placas de titulación. Para ello las muestras y estándares apropiados se incubaron con el anticuerpo primario. Después de un lavado para eliminar todas las sustancias no unidas que pudiesen interferir con el ensayo, se añadió un segundo anticuerpo específico para el primero y conjugado con biotina y se realizó una segunda incubación. Tras la eliminación por lavado del segundo anticuerpo no unido, se incubaron de nuevo en presencia de un complejo estreptavidina-peroxidasa y se cuantificó la citoquina unida por una reacción enzimática que originó cambios de color detectables en el espectrofotómetro.

- Expresión de proteínas (TNF-alpha, IL-1, IL-10, MCP-1, NFkB, Bax, Bad, Bak, PUMA, Bcl2, iNOS y eNOS) en tejido hepático. Se realizó mediante la técnica de Western Blotting.

Las muestras se homogeneizaron en tampón de lisis (100 mmol/L NaCl, 10 mmol/L TRIS-Cl (pH 7,6) 1 mmol/L EDTA (pH 8), 1 µg/ml aprotinina, 100 µg/ml PMSF). Todas las muestras se diluyeron (1:1) con tampón 2X (100 mmol/L TRIS-HCl (pH 6,8), 4% SDS, 20% glicerol, 0.1 azul de bromofenol, 200 mmol/L ditiotreitól) y se hirvieron 10 minutos a 100°C.

Para corregir posibles variaciones en el tamaño de las muestras se determinó la concentración de proteínas por el método de Bradford (Bradford MM, 1976). Cantidades equivalentes de proteína se sometieron a electroforesis en gel de SDS poliacrilamida (10%). Una vez separadas las proteínas, eran transferidas a una membrana de nitrocelulosa (Bio-Rad, Mississauga, Ontario) a la que quedan unidas irreversiblemente y donde son más accesibles a los anticuerpos específicos. A continuación las membranas se incubaron 90 minutos a 37°C en un buffer (20 mmol/L TRIS, 150 mmol/L NaCl, 0,2% Nonidet P 40, 5% leche desnatada) para bloquear la unión inespecífica, y después se incubaron 60 minutos a 20°C en presencia de

anticuerpos primarios específicos. Tras un lavado para eliminar el anticuerpo no unido, las membranas se incubaron de nuevo durante 60 minutos a 20°C en presencia de un anticuerpo secundario que reconoce inmunoglobulinas de conejo, acoplado covalentemente a una peroxidasa (horseradish peroxidase-conjugated polyclonal anti-rabbit IgG secondary antibody, Transduction Lab, Lexington, KY).

Tras el lavado de las membranas las proteínas se visualizaron mediante quimioluminiscencia (ECL system, Amersham, Oakville, Ontario).

- Expresión y extracción de ARN mensajero, ARNm (TNF-alpha, IL-1, IL-10, MCP-1, NFkB, iNOS y eNOS) en tejido hepático. Se utilizó la técnica de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) en tiempo real.

Para el aislamiento del ARN de las muestras hepáticas porcinas, fue utilizado siguiendo el protocolo de los productores, el kit TRI reactivo (Molecular Research Centre, Inc, Cincinnati, OH, USA) según el método descrito por Chomczynski y Sacchi (Chomczynski P, 1987). La pureza del ARN se midió con electroforesis en gel 1,5% agarosa, y las concentraciones de ARN fueron determinadas con espectrofotometría (260 nm).

Para la transcripción reversa se utilizaron 2 µg del ARNm de cada una de las muestras. El proceso se llevó a cabo utilizando un kit comercial (Promega, Madison, WI, USA), de acuerdo a las instrucciones detalladas en el manual y una mezcla de random primers pd(N)6. Para ello se usó un termociclador para PCR en tiempo real (Applied Biosystems 7300). Se utilizó el método inespecífico de fluorescencia SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Warrington, UK) y los primers se utilizaron a una concentración de 300 nM. La secuencia de primers se muestra en la tabla 11.

Se utilizó el gen endógeno 18S como control interno. La amplificación RT-PCR fue realizada de la siguiente forma: 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C durante 15s, 60°C durante 1 minuto, 95°C durante 15s, 60°C durante 30s y 95°C durante 15s.

Para la normalización de la carga del cADN en PCR, se utilizó la amplificación del 18S ARNr por cada muestra. Los cambios relativos en la expresión genética fueron calculados utilizando el método  $2^{-\Delta\Delta CT}$  (Livak KJ, 2001).

Las películas fueron escaneadas con un densitómetro (BioRad GS 800) para determinar sus densidades ópticas relativas. Usamos marcadores proteicos marcados previamente para las determinaciones del peso molecular. La reproducibilidad dentro de los ensayos se evaluó con tres experimentos independientes. Cada ensayo se realizó con tres replicados. El coeficiente de variación intra-ensayo fue menor de 5%. El coeficiente de variación inter-ensayo fue menor de 6%.

	Cebadores	Secuencia (5'-3')
<b>18S</b>	<i>Sentido</i>	GGTGCATGGCCGTTCTTA
	<i>Antisentido</i>	TCGTTCGTTATCGGAATTAACC
<b>TNF-alpha</b>	<i>Sentido</i>	ATGAGAAGTTCCCAAATGGC
	<i>Antisentido</i>	CTCCACTTGGTGGTTTGCTA
<b>IL-1beta</b>	<i>Sentido</i>	TGTGATGAAAGACGGCACAC
	<i>Antisentido</i>	CTTCTTCTTTGGGTATTGTTTG
<b>IL-10</b>	<i>Sentido</i>	ACTGCACCCACTTCCCAGT
	<i>Antisentido</i>	TTGTCCAGCTGGTCCTTTGT
<b>MCP-1</b>	<i>Sentido</i>	AGCATCCACGTGCTGTCTC
	<i>Antisentido</i>	GATCATCTTGCCAGTGAATGAGT
<b>NFkB</b>	<i>Sentido</i>	CAGCTCTTCTCAAAGCAGCA
	<i>Antisentido</i>	TCCAGGTCATAGAGAGGCTCA
<b>eNOS</b>	<i>Sentido</i>	CCAGTGCCCTGCTTCATC
	<i>Antisentido</i>	GCAGGGCAAGTTAGGATCAG
<b>iNOS</b>	<i>Sentido</i>	CTTGCCACGGACGAGAC
	<i>Antisentido</i>	TCATTGTA CTGAGGGCTGAC

**Tabla 11. Cebadores específicos usados para la RT-PCR**

## 2.6. VARIABLES HEMODINÁMICAS

Las variables hemodinámicas analizadas en el estudio fueron: el gasto cardiaco e índice cardiaco, el volumen diastólico final indexado o index global end diastolic (GEDI), las RVS (resistencias vasculares sistémicas), la contractilidad miocárdica (dp max), el agua

vascular extrapulmonar (ELW-extravascular lung water), el rendimiento cardíaco (relación entre el volumen diastólico final y el gasto cardíaco) y el VVS (variación volumen sistólico), tanto en valores absolutos como indexados conforme a la superficie corporal del animal.

El catéter alojado en la arteria femoral permite medir la presión arterial media (PAM). Mediante el monitor de gasto cardíaco PICOO plus® (Edwards Lifesciences) y utilizando el método de termodilución transpulmonar, se analiza el índice cardíaco (IC) y demás parámetros. El método de termodilución se basa en la premisa, de que al añadir a la sangre circulante un líquido con una temperatura diferente a la de la misma sangre, la tasa de flujo sanguíneo será inversamente proporcional al cambio de concentración de ese líquido inyectado a lo largo del tiempo. La forma en que dicho principio se aplica al experimento es inyectando 10 ml de un líquido (suero salino fisiológico) con una temperatura diferente a la de la sangre (próxima a 5°C) a través de la luz proximal del catéter venoso central. Finalmente, la frecuencia cardíaca se registra de forma continua gracias a la monitorización electrocardiográfica.

## **2.7 VARIABLES GASOMÉTRICAS**

Las muestras de sangre arterial obtenidas en los diferentes momentos del experimento fueron analizadas obteniendo los valores de la presión arterial de oxígeno (PaO<sub>2</sub>), de la presión arterial de dióxido de carbono (PaCO<sub>2</sub>) y del pH sanguíneo.

## **3. ANALÍISIS ESTADÍSTICO**

Las variables a estudio, todas ellas cuantitativas, serán introducidas en una base de datos y procesadas mediante el paquete estadístico SPSS, en su versión más actualizada en el momento del análisis (Windows 15.0). Los resultados se han expresado como Media  $\pm$  error estándar de la media (ESM). Se realizará comparación de los resultados de las variables cuantitativas mediante pruebas no paramétricas: Wilcoxon (comparaciones intragrupo); U-Mann Whitney y Kruskal-Wallis (comparaciones entre grupos), la hipótesis nula fue rechazada para un valor de  $\alpha=0,05$ . La significación estadística fue establecida con  $P \leq 0,05$ .

# RESULTADOS

## 1. VARIABLES HEMODINÁMICAS Y GASOMÉTRICAS

En cuanto a los valores gasométricos existe una mejor oxigenación en el grupo SHAM-A durante el procedimiento quirúrgico, sin observarse cambios a las 24 horas (Tabla 12). El uso de sevoflurano no se asoció a una diferencia en los valores hemodinámicos entre los distintos grupos de estudio durante el procedimiento quirúrgico inicial, ni a las 24 horas del mismo (Tabla 13).

VARIABLES GASOMÉTRICAS	GRUPO	BASAL	OLV+30	OLV+120	TLV+60	24 H
SaO <sub>2</sub> (%)	SHAM-A	99.5 (1.2)	100 (0.0)	100 (0.0)	100 (0.0)	100 (0.0)
	SHAM-B	100(0)	96,4 (1,7)	92,2 (4,2)	96,4 (2,2)	100 (0)
	CON	100 (0.0)	98.6 (1.1)	99.2 (0.9)	99.0 (1.1)	99.8 (0.4)
	SEVO	99,8 (0,1)	96,3(2,9)	99,5 (0,3)	97,8 (0,7)	99,6 (0,3)
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	SHAM-A	279 (77)	244 (70)	256 (45)	251 (51)	252(54)
	SHAM-B	360 (51)	123 (31) $\Omega$	140 (48) $\Omega$	150,8 (36)	257,5 (19)
	CON	236 (55)	136 (24)*	176 (27)*	235 (48)	245(59)
	SEVO	233 (24)	137 (28)#	223(65)& $\Psi$	152 (43)	272,5 (32)
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	SHAM-A	41.3 (4.2)	40.0 (3.4)	41.3 (4.0)	45.0 (8.7)	39.2 (6.6)
	SHAM-B	49,6 (8)	59 (10)	67,8 (12)	57,4 (3)	49 (3)
	CON	41.4 (5.9)	41.2 (7.8)	43.4 (6.8)	48.0 (9.7)	38.8 (6.9)
	SEVO	45,5 (4)	55 (4)	47,5 (3,2)	59 (3)	41,3 (4)
pH	SHAM-A	7.5 (0.0)	7.5 (0.0)	7.5 (0.0)	7.5 (0.1)	7.5 (0.1)
	SHAM-B	7,41 (0,0)	7,35 (0,0)	7,31 (0,0)	7,35 (0,0)	7,45 (0,0)
	CON	7.5 (0.1)	7.5 (0.1)	7.5 (0.1)	7.4 (0.1)	7.5 (0.1)
	SEVO	7,44 (0,0)	7,38 (0,0)	7,41 (0,0)	7,34 (0,0)	7,47 (0,0)

Tabla 12. Parámetros respiratorios y gases arteriales. Datos expresados como media (desviación estándar). OLV: Ventilación unipulmonar; TLV: Ventilación bipulmonar. CON: Control. SEVO: Sevoflurano; NS: No significativo. \* p< 0.05 CON vs SHAM-A. # p<0.05 SEVO vs SHAM-A. & p< 0.05 SEVO vs CON,  $\Psi$  p<0.05 SEVO vs SHAM-B.  $\Omega$  p<0.05 SHAM-B vs SHAM-A.

VARIABLES HD	Grupo	BASAL	OLV +30	OLV +120	TLV +60	24 h
FC (lpm)	SHAM-A	89.0 (24)	87.5 (13)	88.0 (17)	87.8 (10)	95.0 (16)
	SHAM-B	85 (12)	91 (15)	99,6 (9)	101,2 (8)	95,5 (8)
	CON	94.6 (14)	101.4 (18)	90.8 (8)	96.8 (8)	82.8 (16)
	SEVO	78 (3,7)	107 (6,7)	106,1 (10)	106,6 (9)	111,8 (12,6)
PAM (mmHg)	SHAM-A	93 (11)	94 (12)	102 (11)	114 (14)	106 (22)
	SHAM-B	108 (6)	96,25 (10)	110 (7,8)	122 (3)	111,5 (3,2)
	CON	92 (27)	100 (22)	97 (10)	124 (17)	104 (10)
	SEVO	69.8 (14)	97,6 (11)	91,6 (9)	99,3 (12)	98,5 (15)
PVC (mmHg)	SHAM-A	9.7(3.8)	9.3 (5.2)	10.5 (4.8)	9.2 (5.5)	6.7 (3.4)
	SHAM-B	12 (1,5)	12,8 (1,2)	12,2 (1,15)	12,4 (1,6)	10,25 (1,2)
	CON	8.2 (5.5)	9.6 (4.3)	9.2 (3.8)	8.4 (4.5)	8.8 (4.8)
	SEVO	6,83 (2)	7,3 (1)	8,1 (2)	7,8 (1,7)	6 (1,2)
IC (l/min/m <sup>2</sup> )	SHAM-A	2.73 (0.6)	2.79 (0.7)	2.83 (1.2)	3.45 (1.1)	3.02 (1.1)
	SHAM-B	3,118 (0,5)	2,65 (0,3)	2,87 (0,3)	3,49 (0,6)	4,63 (1,1)
	CON	3.47 (0.8)	3.42 (0.7)	3.14 (0.4)	3.74 (1.0)	2.84 (0.9)
	SEVO	2,07 (0,3)	2,86 (0,4)	2,46 (0,5)	2,8 (0,7)	2,4 (0,2)
GEDVI (l/min/m <sup>2</sup> )	SHAM-A	497 (156)	497 (156)	519 (187)	580 (136)	429 (149)
	SHAM-B	463,4 (62)	446 (55)	416,8 (44)	438 (88)	433 (147)
	CON	546 (249)	541 (258)	514 (83)	626 (147)	395 (58)
	SEVO	512 (100)	521 (64)	445 (48)	382 (89)	355 (35)
ELWI (ml/Kg)	SHAM-A	8.5 (2.7)	8.5 (2.7)	13.3 (5.5)	14.2 (5.4)	7.5 (1.2)
	SHAM-B	5,8 (1,1)	9,6 (1,9)	6,8 (2,3)	13 (3,7)	11 (3,16)
	CON	17.0 (10.4)	14.0 (8.5)	14.8 (5.4)	18.6 (7.5)	9.3 (4.2)
	SEVO	6,8 (1,2)	12,3 (2)	13 (4,1)	19,1 (5)	7,6 (1,3)
VVS (%)	SHAM-A	19.0 (5.4)	12.3 (1.8)	11.2 (6.6)	18.0 (5.1)	25.7 (9.1)
	SHAM-B	11,8 (2)	6,4 (1,2)	11 (1,5)	14,8 (3,5)	9,25 (0,85)
	CON	18.4 (6.2)	15.2 (7.9)	15.0 (2.7)	14.6 (4.3)	17.8 (7.4)
	SEVO	14,3 (1,4)	11,3 (2,2)	8,3 (1,2)	15,8 (4,3)	19 (2,9)
RVSI (dyn/s/cm <sup>5</sup> /m <sup>2</sup> )	SHAM-A	2897 (939)	2680 (733)	3126 (1383)	3067 (1604)	2948 (1050)
	SHAM-B	2128 (383)	2454 (485)	3477 (1112)	2363 (210)	1809 (129)
	CON	1899 (496)	2139 (655)	2349 (405)	2739 (664)	2798 (1185)
	SEVO	3115 (517)	2693 (819)	2692 (647)	3791 (1038)	2993 (744)

**Tabla 13. Valores hemodinámicos.** Resultados expresados como media (desviación estándar). OLV: Ventilación unipulmonar; TLV: Ventilación bipulmonar. CON: Control. SEVO: Sevoflurano. FC: Frecuencia cardiaca; PAM: Presión arterial media; PVC: Presión venosa central; IC: Índice cardíaco; GEDVI: Global end diastolic volume index (índice volumen global diastólico final); ELWI: Extravascular lung water index (índice de agua extravascular pulmonar); VVS: Variabilidad del volumen sistólico; IRVS: Índice de resistencias vasculares sistémicas.



## 2. NIVELES PLASMÁTICOS DE MEDIADORES INFLAMATORIOS

Los valores son expuestos en la tabla 14. A continuación se realiza el análisis descriptivo de forma individualizado de cada uno de ellos.

- **INTERLEUQUINA 1 (IL-1)**

Como se ve en la figura 10, en el estadio OLV120 los niveles plasmáticos de IL-1 fueron más altos en el grupo CONTROL, comparados con los valores observados en los grupos SHAM (A y B), y un aumento posterior fue observado a las 24 h post cirugía. La administración de SEVO bloqueó de forma significativa este incremento.

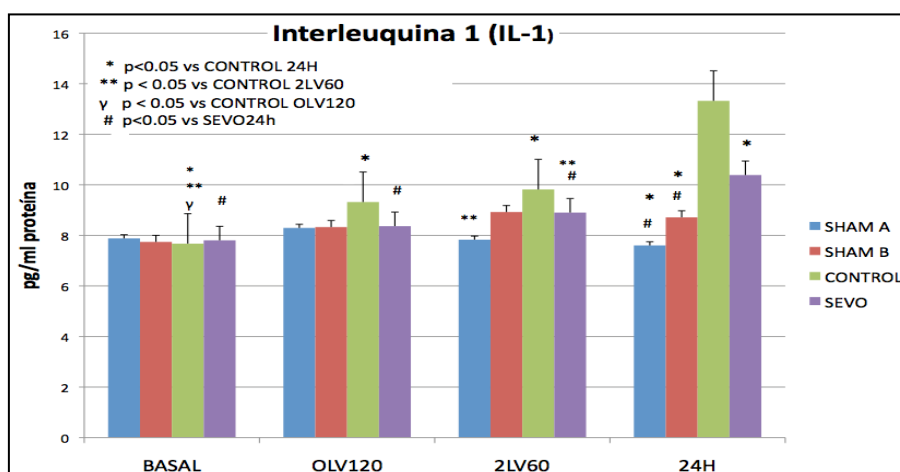


Figura 10. Niveles plasmáticos de Interleuquina 1 (IL-1)

- **FACTOR NECROSIS TUMORAL ALPHA (TNF-alpha)**

Tanto la OLV (grupo SHAM B) como la cirugía de resección pulmonar (CRP) (grupo CONTROL) indujeron un aumento significativo de los niveles plasmáticos de TNF-alpha en todos los tiempos estudiados. Este incremento fue significativamente mayor en el caso del grupo control. De nuevo, la administración de SEVO bloqueó de forma significativa este incremento (Fig. 11).

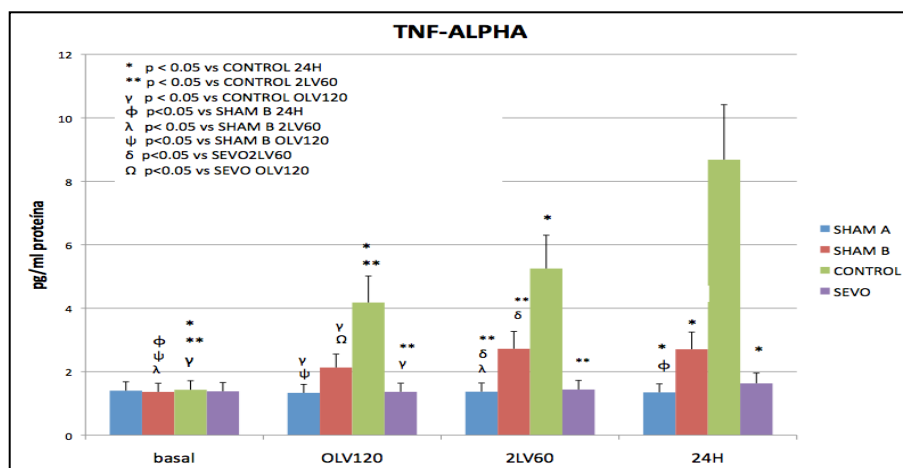


Figura 11. Niveles plasmáticos de Factor de Necrosis Tumoral alpha (TNF-alpha)

### 3. NIVELES PLASMÁTICOS DE MARCADORES DEL GLICOCÁLIX

#### • HEPARÁN SULFATO

La OLV no modificó los niveles de Heparán Sulfato en plasma, que sin embargo aumentó de forma significativa en el grupo control, sometido a OLV+CRP. Aunque la administración de SEVOFLURANO no modificó esta respuesta significativamente en un estadio precoz (OLV120), sí disminuyó significativamente esta respuesta en los otros tiempos ( $p < 0.05$ ), a niveles semejantes a los basales (figura 12).

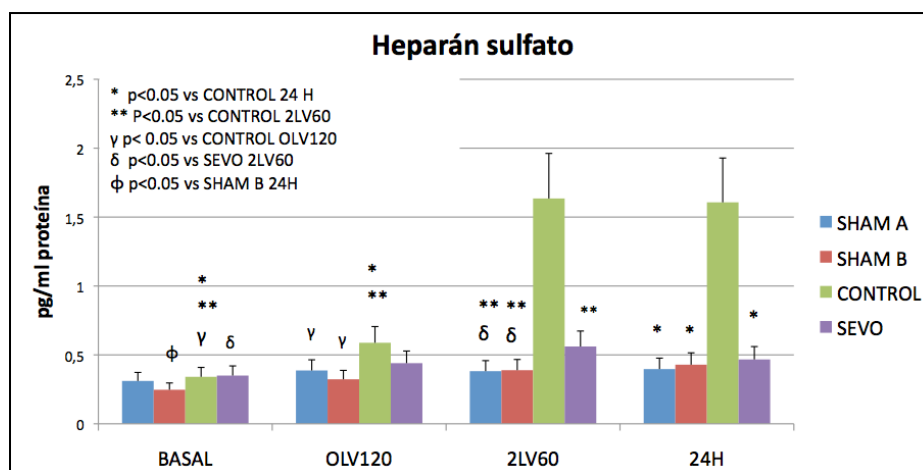


Figura 12. Niveles plasmáticos de Heparán Sulfato

- **SYNDECAN-1**

Como en el caso del HS, tampoco se observaron diferencias significativas en los niveles de SYNDECAN-1 en el grupo SHAM B (OLV). En el grupo control, se observó un aumento de SYNDECAN-1 en el tiempo 2LV60 y una elevación posterior a las 24 h. La administración de SEVO normalizó estos valores, siendo similares a los observados en el grupo SHAM A (Fig. 13).

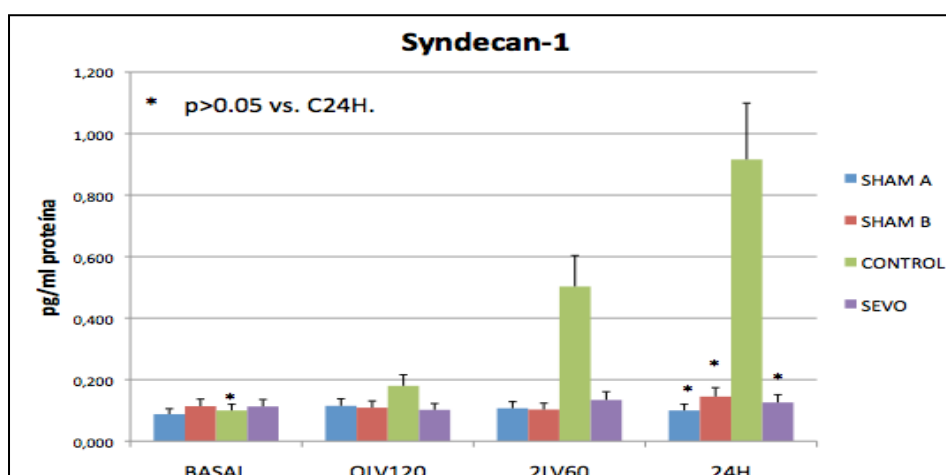
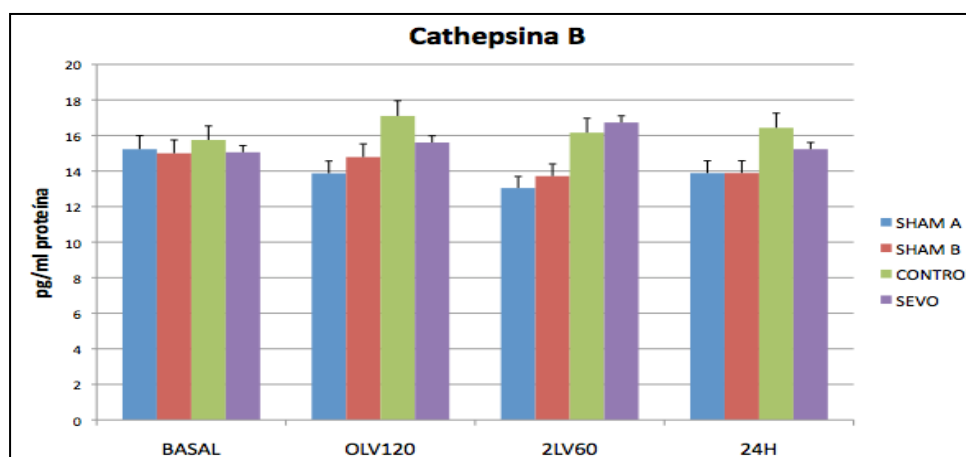


Figura 13. Niveles plasmáticos de Syndecan-1

- **CATHEPSINA B**

No hemos encontrado diferencias significativas en los niveles de cathepsina B en ninguna de las situaciones estudiadas (Fig. 14), aunque podemos observar que sus valores son menores en el grupo sevoflurano, salvo en tiempo 2LV60, al ser comparados con los valores obtenidos en el grupo CONTROL.



BIOQUÍMICA	GRUPO	BASAL	OLV120	2LV60	24H
(pg/ml proteína)	SHAM-A	1,401 (0.22)	1,333 (0.31) <sup>ψ</sup>	1,369 (0.39) <sup>**δλ</sup>	1,347 (0.19) <sup>*ϕ</sup>
	SHAM-B	1,363 (0.05) <sup>ϕψλ</sup>	2,131 (0.26) <sup>ψΩ</sup>	2,722 (0.71) <sup>**δ</sup>	2,706 (0.79) <sup>#</sup>
TNF-ALPHA	CONTROL	1,43 (0.23) <sup>*ψ</sup>	4,179 (0.90) <sup>*ψ</sup>	5,251 (0.75) <sup>*</sup>	8,681 (1.36)
	SEVO	1,38 (0.24)	1,365 (0.27) <sup>*ψ</sup>	1,437 (0.21) <sup>**</sup>	1,631 (0.30) <sup>*</sup>
	SHAM-A	7,88 (1.13)	8,294 (0.37)	7,829 (1.50) <sup>**</sup>	7,602 (1.79) <sup>#</sup>
IL-1	SHAM-B	7,741 (1.21)	8,328 (1.27)	8,924 (1.87)	8,713 (0.48) <sup>#</sup>
	CONTROL	7,672(1.09) <sup>*ψ</sup>	9,319 (0.63) <sup>*</sup>	9,817 (0.82) <sup>*</sup>	13,322 (1.67)
	SEVO	7,803 (0.54) <sup>#</sup>	8,364 (0.48) <sup>#</sup>	8,901 (0.34) <sup>**#</sup>	10,387 (0.17) <sup>*</sup>
	SHAM-A	15,229 (7.93)	13,87 (4.22)	13,042 (6.54)	13,883 (9.67)
CATHEPSINA-B	SHAM-B	14,998 (2.13)	14,787 (3.24)	13,715 (0.97)	13,886 (3.05)
	CONTROL	15,749 (3.74)	17,1 (3.78)	16,16 (2.14)	16,433 (2.45)
	SEVO	15,056 (3.18)	15,605 (1.37)	16,731 (2.35)	15,23 (3.19)
	SHAM-A	0,311 (0.08)	0,387 (0.10) <sup>ψ</sup>	0,382 (0.08) <sup>**δ</sup>	0,397 (0.10) <sup>*</sup>
HEPARÁN SULFATO	SHAM-B	0,247(0.09) <sup>ϕ</sup>	0,323 (0.15) <sup>ψ</sup>	0,389 (0.16) <sup>**δ</sup>	0,429 (0.07) <sup>*</sup>
	CONTROL	0,341 (0.06) <sup>*ψ</sup>	0,588 (0.15) <sup>*ψ</sup>	1,635 (0.28)	1,607 (0.10)
	SEVO	0,35 (0.08) <sup>δ</sup>	0,44 (0.05)	0,561 (0.20) <sup>**</sup>	0,467 (0.10) <sup>*</sup>
	SHAM-A	0,088 (0.01)	0,115 (0.05)	0,107 (0.05)	0,1 (0.04) <sup>*</sup>
SYNDECAN-1	SHAM-B	0,114 (0.05)	0,109 (0.03)	0,103 (0.01)	0,145 (0.01) <sup>*</sup>
	CONTROL	0,100 (0.02) <sup>*</sup>	0,18 (0.01)	0,503 (0.12)	0,916 (0.31)
	SEVO	0,113 (0.03)	0,102 (0.01)	0,134 (0.03)	0,126 (0.03) <sup>*</sup>

Figura 14. Niveles plasmáticos de Cathepsina B

Tabla 14. Niveles plasmáticos de mediadores inflamatorios y de marcadores de glicocáliz. Resultados expresados como media (DE: desviación estándar). \*p < 0.05 vs CONTROL 24 H, \*\* p<0.05 vs CONTROL 2LV60, <sup>ψ</sup> p<0.05 vs CONTROL OLV120, <sup>#</sup> p<0.05 vs SEVO 24H, <sup>δ</sup> p<0.05 vs SEVO 2LV60, <sup>Ω</sup> p< 0.05 vs SEVO OLV120, <sup>ϕ</sup> p<0.05 vs SHAM B 24H, <sup>λ</sup> p<0.05 vs SHAM A 2LV60, <sup>ψ</sup> p<0.05 vs SHAM B OLV120.

#### 4. EXPRESIÓN DE MEDIADORES INFLAMATORIOS Y APOPTÓTICOS EN TEJIDO HEPÁTICO

Los valores son expuestos en las tablas 15 (citoquinas), 16 (apoptosis) y 17 (iNOS y eNOS). A continuación, se realiza el análisis descriptivo de cada uno de ellos.

##### FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALPHA (TNF-ALPHA)

La expresión proteica de TNF-alpha fue significativamente más alta en el hígado del grupo CONTROL, comparado con los observados en los grupos SHAM A y SHAM B, encontrándose también diferencias significativas entre grupos SHAM A y SHAM B. Aunque la expresión hepática de TNF-alpha disminuyó en el grupo SEVO, permanecieron más altos que los observados en los grupos SHAM (Fig. 15).

Cuando se determinó la expresión del ARNm, los resultados fueron similares a los anteriores, observándose un aumento de la expresión del ARNm del TNF-alpha en los grupos SHAM B y CONTROL, comparados con los observados en el grupo SHAM A. También, en este caso, el SEVO bloqueó este aumento, incluso siendo su expresión proteica menor, de forma significativa, respecto al grupo SHAM B (Fig. 16).

- **Análisis Western-Blot de Factor Necrosis Tumoral (TNF-alpha)**

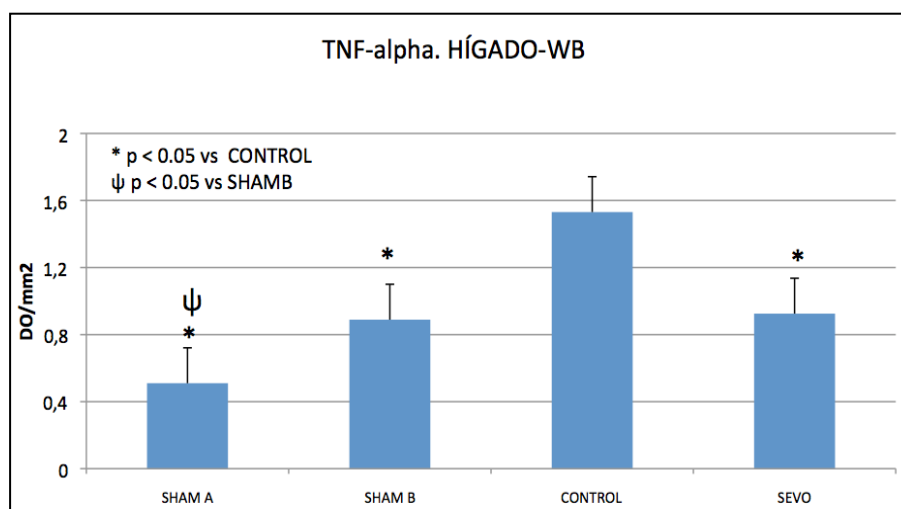


Figura 15. Expresión proteica de TNF-alpha en tejido hepático mediante Western-Blot

- Expresión del ARNm de la citoquina inflamatoria Interleuquina 1 (IL-1)

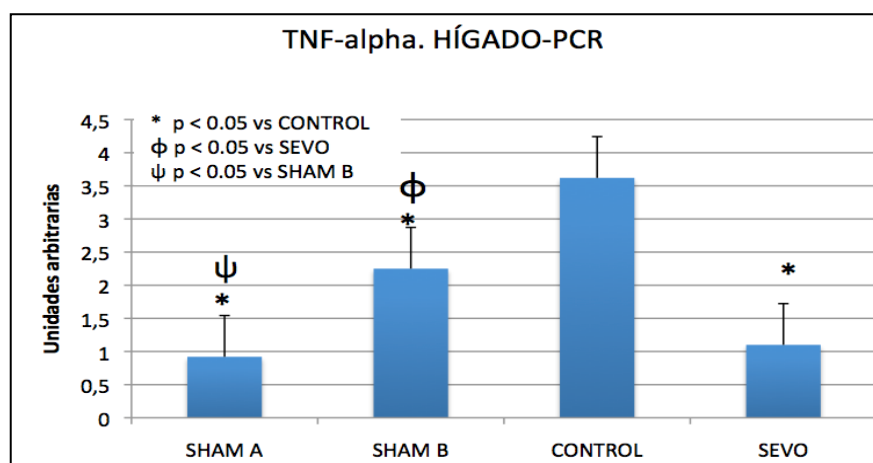


Figura 16. Expresión hepática del ARNm de TNF-alpha

## INTERLEUQUINA 1 (IL-1)

La expresión proteica de IL-1 fue significativamente más alta en el hígado del grupo CONTROL, comparado con los observados en los grupos SHAM A y SHAM B, encontrándose también diferencias significativas entre grupos SHAM A y SHAM B. Aunque la expresión hepática de IL-1 disminuyó en el grupo SEVO, permanecieron más altos que los observados en el grupo SHAM A y equiparable a los observados en el grupo SHAM B (Fig. 17).

Cuando se determinó la expresión del ARNm, los resultados fueron similares a los anteriores, observándose un aumento de la expresión del ARNm de IL-1 en los grupos SHAM B y CONTROL, comparados con los observados en el grupo SHAM A. También, en este caso, el SEVO bloqueó este aumento con respecto al grupo CONTROL (Fig. 18).

- **Análisis Western-Blot de Interleuquina 1 (IL-1)**

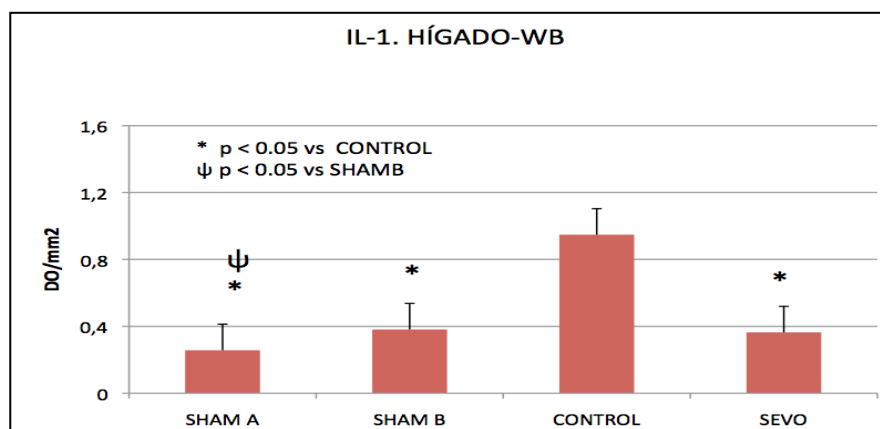


Figura 17. Expresión proteica de IL-1 en tejido hepático mediante Western-Blot

- **Expresión del ARNm de la citoquina inflamatoria Interleuquina 1 (IL-1)**

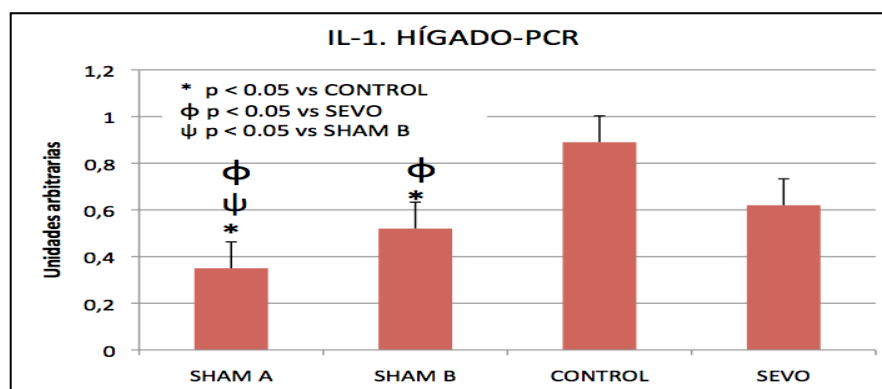


Figura 18. Expresión hepática del ARNm de IL-1

## INTERLEUQUINA 10

La expresión proteica de IL-10 fue significativamente más baja en el hígado del grupo CONTROL, comparado con los observados en los grupos SHAM A y SHAM B. La expresión hepática de IL-10, incluso, aumentó en el grupo SEVO, permaneciendo sus valores más altos que los observados en los grupos SHAM A y SHAM B, siendo dicho aumento significativo con respecto a este último grupo (Fig. 19).

Cuando se determinó la expresión del ARNm de IL-10, los resultados fueron similares a los anteriores, observándose una disminución de la expresión del ARNm de IL-10 en los grupos SHAM B y CONTROL, comparados con los observados en el grupo SHAM A. También, en este caso, el SEVO bloqueó esta disminución con respecto al grupo CONTROL (Fig. 20).

- Análisis Western-Blot de Interleuquina 10 (IL-10)**

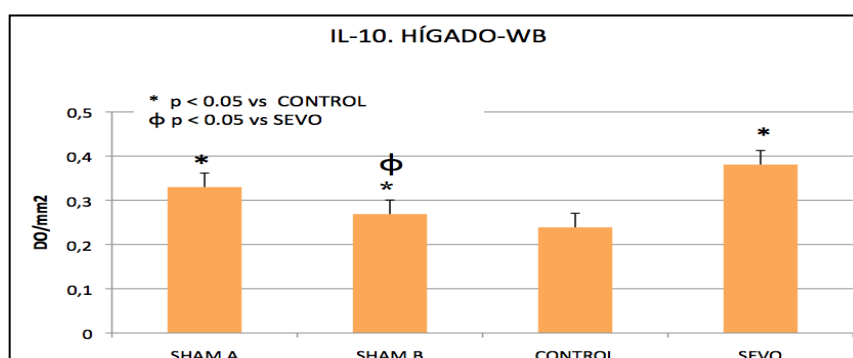


Figura 19. Expresión proteica de IL-10 en tejido hepático mediante Western-Blot

- Expresión del ARNm de la citoquina antiinflamatoria Interleuquina 10 (IL-10)**

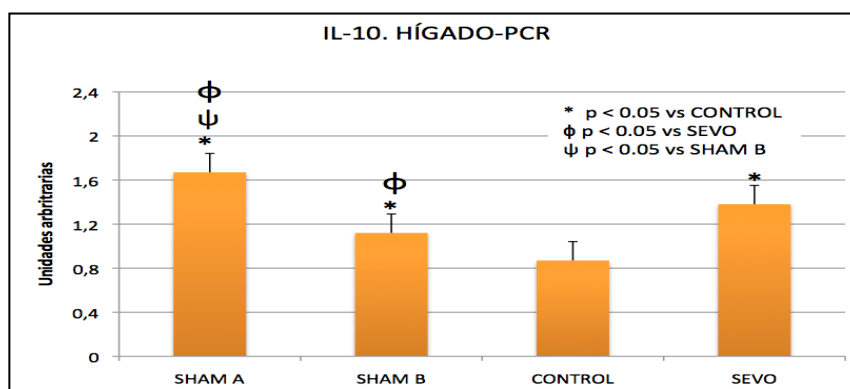


Figura 20. Expresión hepática del ARNm de IL-10



## FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN NUCLEAR NFkB

La expresión proteica de NFkB fue significativamente más alta en el hígado del grupo CONTROL, comparado con los observados en los grupos SHAM A y SHAM B. Aunque la expresión hepática de NFkB disminuyó en el grupo SEVO, permanecieron significativamente más altos que los observados en los grupos SHAM (Fig. 21).

Cuando se determinó la expresión del ARNm, los resultados fueron similares a los anteriores, observándose un aumento de la expresión del ARNm de NFkB en los grupos SHAM B y CONTROL, comparados con los observados en el grupo SHAM A. También, en este caso, el SEVO bloqueó este aumento con respecto al grupo CONTROL (Fig. 22).

- **Análisis Western-Blot de NFkB**

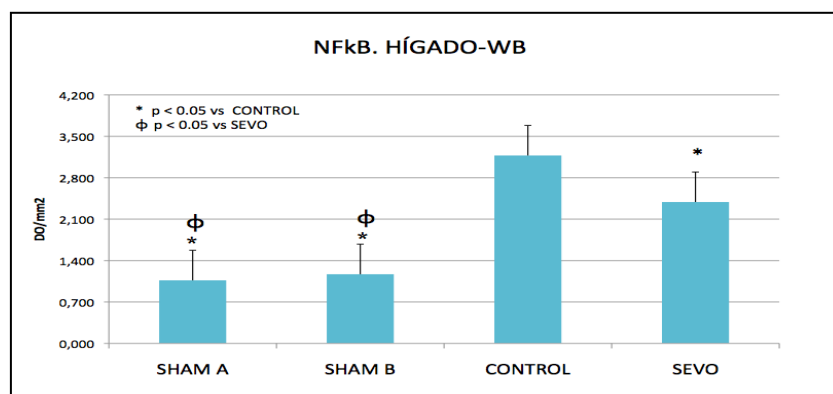


Figura 21. Expresión proteica de NFkB en tejido hepático mediante Western-blot

- **Expresión del ARNm del Factor de Transcripción Nuclear NFkB.**

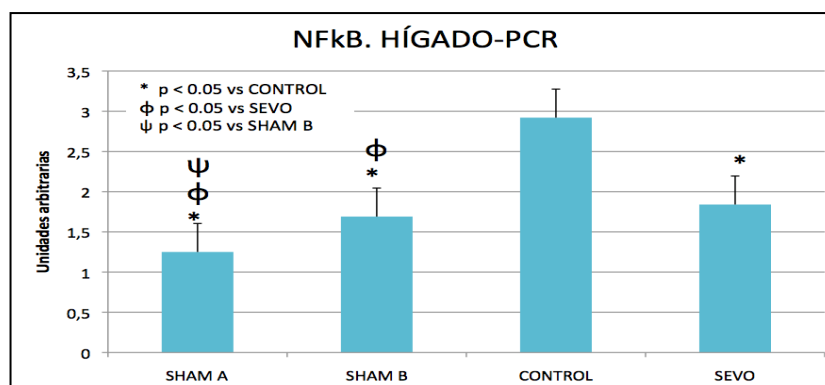


Figura 22. Expresión hepática del ARNm del factor de transcripción nuclear NFkB

## PROTEÍNA-1 QUIMIOATRAYANTE DE MONOCITOS (MCP-1)

La expresión proteica de MCP-1 fue significativamente más alta en el hígado del grupo CONTROL, comparado con los observados en los grupos SHAM A y SHAM B. La expresión hepática de MCP-1 disminuyó en el grupo SEVO, incluso, a valores más bajos que los observados en los grupos SHAM (Fig. 23).

Cuando se determinó la expresión del ARNm, los resultados fueron similares a los anteriores, observándose un aumento de la expresión del ARNm de MCP-1 en los grupos SHAM B y CONTROL, comparados con los observados en el grupo SHAM A. También, en este caso, el SEVO bloqueó este aumento con respecto al grupo CONTROL e incluso, con valores significativamente menores con respecto al grupo SHAM B (Fig. 24).

- **Análisis Western-Blot de MCP-1**

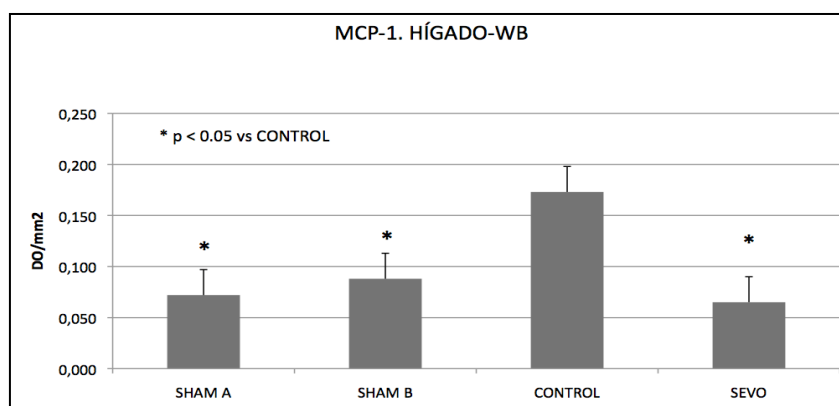


Figura 23. Expresión proteica de MCP-1 en tejido hepático mediante Western-Blot

- **Expresión del ARNm de MCP-1**

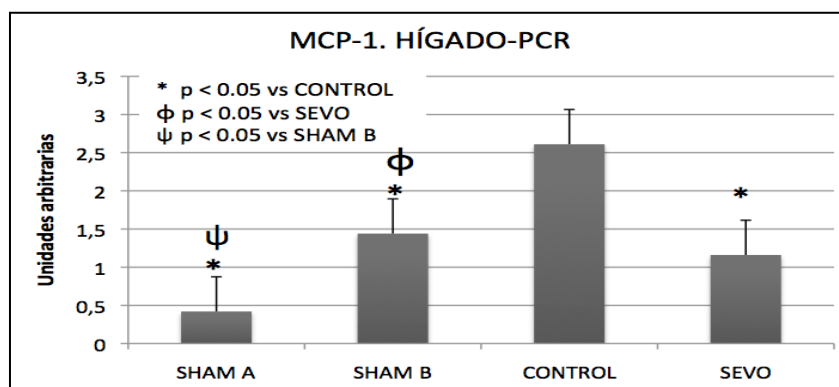


Figura 24. Expresión hepática del ARNm de MCP-1

## PROTEÍNA PROAPOPTÓTICA: BAK

La expresión proteica de Bak fue significativamente más alta en el hígado del grupo CONTROL, comparado con los observados en los grupos SHAM A, SHAM B y SEVO, siendo también significativamente más alta en el grupo SHAM B con respecto al grupo SHAM A. La expresión hepática de Bak disminuyó en el grupo SEVO, incluso a valores menores que en los grupos SHAM, siendo significativa dicha disminución con respecto al grupo SHAM B (Fig. 25).

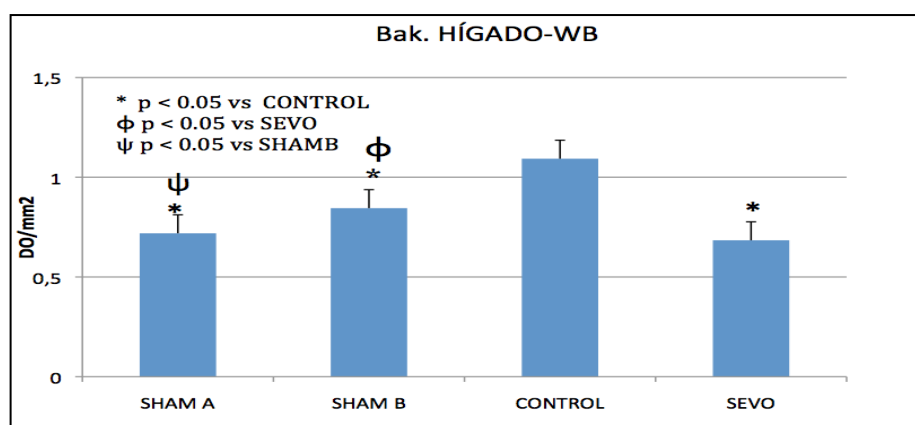


Figura 25. Expresión proteica de Bak en tejido hepático mediante Western-Blot

## 4.7. PROTEÍNA PROAPOPTÓTICA: PUMA

La expresión proteica de PUMA fue significativamente más alta en el hígado del grupo CONTROL, comparado con los observados en los grupos SHAM A y SHAM B. Aunque la expresión hepática de PUMA disminuyó en el grupo SEVO, permanecieron significativamente más altos que los observados en los grupos SHAM (Fig. 26).

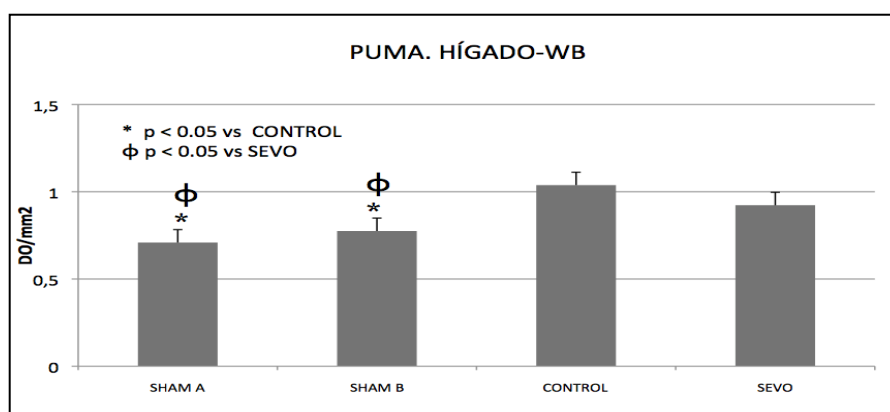


Figura 26. Expresión proteica de PUMA en tejido hepático mediante Western-Blot

## PROTEÍNA PROAPOPTÓTICA: BAD

La expresión proteica de BAD fue significativamente más alta en el hígado del grupo CONTROL, comparado con los observados en los grupos SHAM A, SHAM B y SEVO. Aunque la expresión hepática de BAD disminuyó en el grupo SEVO, permanecieron en valores similares a los observados en los grupos SHAM (Fig. 27).

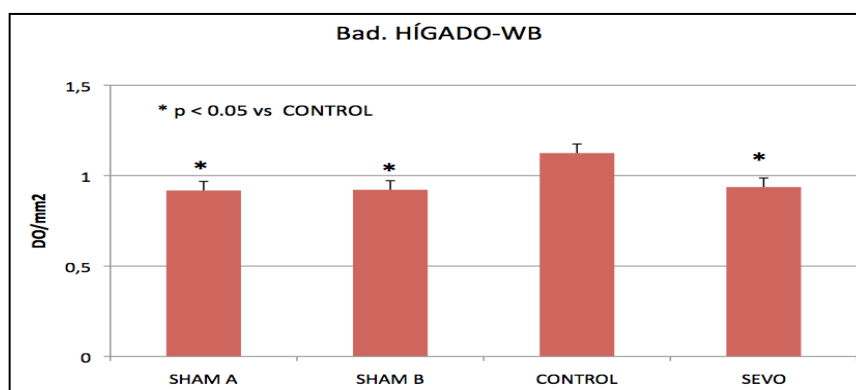


Figura 27. Expresión proteica de Bad en tejido hepático mediante Western-Blot

## PROTEÍNA PROAPOPTÓTICA: BAX

La expresión proteica de BAX fue significativamente más alta en el hígado del grupo CONTROL, comparado con los observados en los grupos SHAM A, SHAM B y SEVO. Aunque la expresión hepática de BAX disminuyó en el grupo SEVO, incluso con valores menores a ambos grupos SHAM, dicha disminución no fue significativa. (Fig. 28).

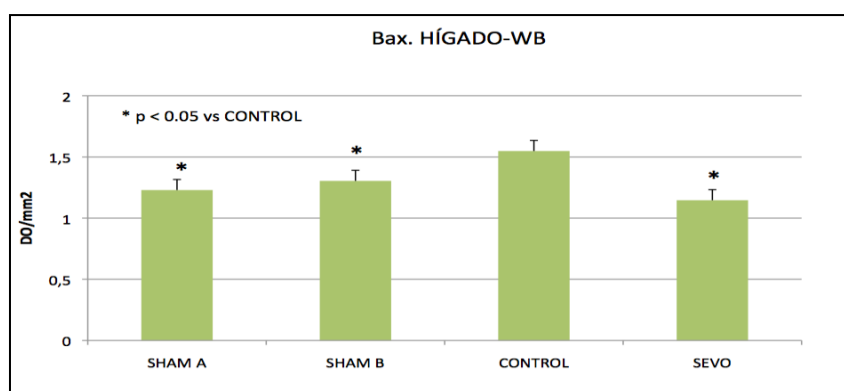


Figura 28. Expresión proteica de Bax en tejido hepático mediante Western-Blot

## PROTEÍNA ANTIAPOPTÓTICA: Bcl2

La expresión proteica de Bcl2 fue significativamente más baja en el hígado del grupo CONTROL, comparado con los observados en los grupos SHAM A, SHAM B y SEVO. Aunque la expresión hepática de Bcl2 aumentó en el grupo SEVO, dichos valores permanecieron significativamente más bajos que los observados en los grupos SHAM (Fig. 29).

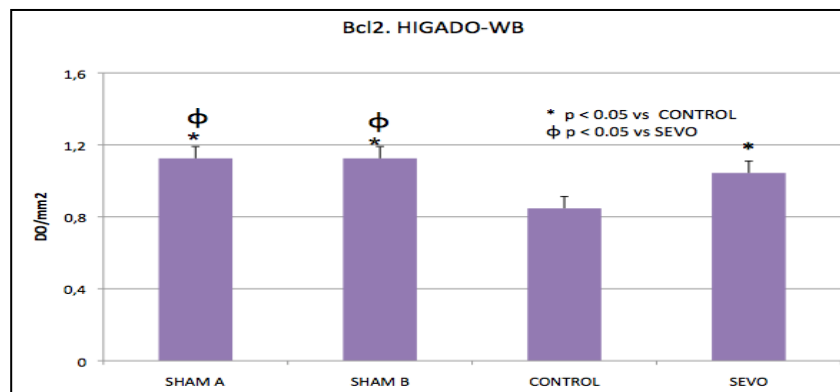


Figura 29. Expresión proteica de Bcl2 en tejido hepático mediante Western-Blot

## ENZIMA ÓXIDO-NÍTRICO SINTASA INDUCIBLE (iNOS)

La expresión proteica de iNOS fue significativamente más alta en el hígado del grupo CONTROL, comparado con los observados en los grupos SHAM A, SHAM B y SEVO. Aunque la expresión hepática de iNOS disminuyó en el grupo SEVO, permanecieron dichos valores más altos que los observados en los grupos SHAM (Fig. 30).

Cuando se determinó la expresión del ARNm, los resultados fueron similares a los anteriores, observándose un aumento de la expresión del ARNm de iNOS en los grupos SHAM B y CONTROL, comparados con los observados en el grupo SHAM A. También, en este caso, el SEVO bloqueó este aumento con respecto al grupo CONTROL y, además, con respecto al grupo SHAM B (Fig. 31).

- **Análisis Western-Blot de iNOS**

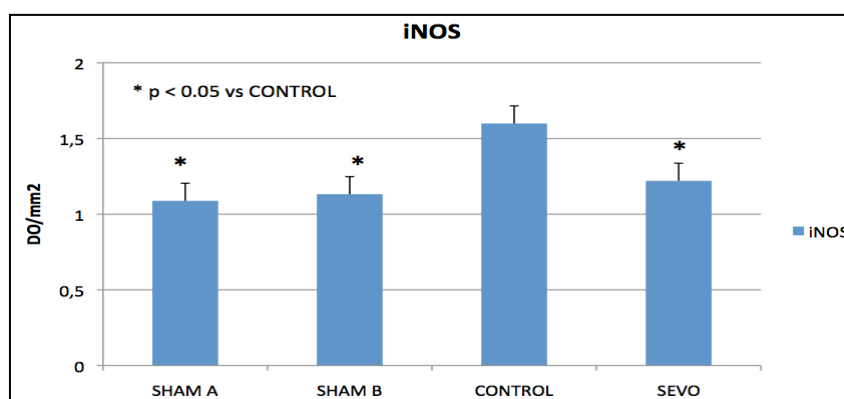


Figura 30. Expresión proteica de iNOS en tejido hepático mediante Western-Blot

- **Expresión del ARNm de iNOS**

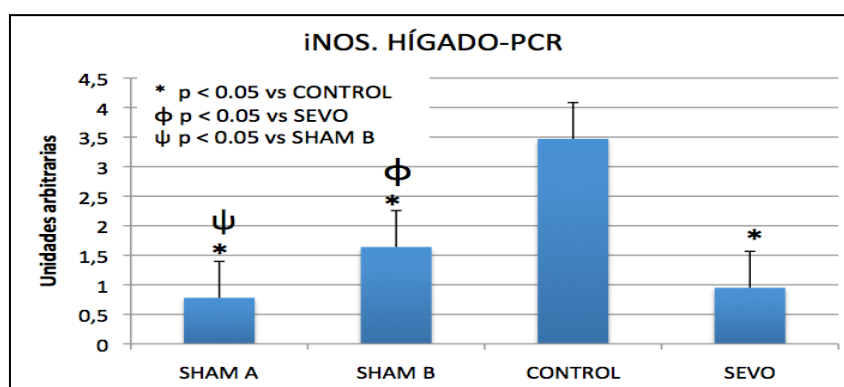


Figura 31. Expresión hepática del ARNm de iNOS

## ENZIMA ÓXIDO-NÍTRICO SINTASA ENDOTELIAL (eNOS)

- **Análisis Western-Blot de eNOS**

La expresión proteica de eNOS fue significativamente más baja en el hígado del grupo CONTROL, comparado con la observada en el grupo SHAM A. La expresión hepática de eNOS en el grupo SEVO, permaneció en niveles similares a los observados en los grupos SHAM y, ligeramente, mayor con respecto al grupo control (Fig. 32).

Cuando se determinó la expresión del ARNm, se observó un aumento de los valores en el grupo control no significativo con respecto a los grupos SHAM A, SHAM B y SEVO (Fig. 33).

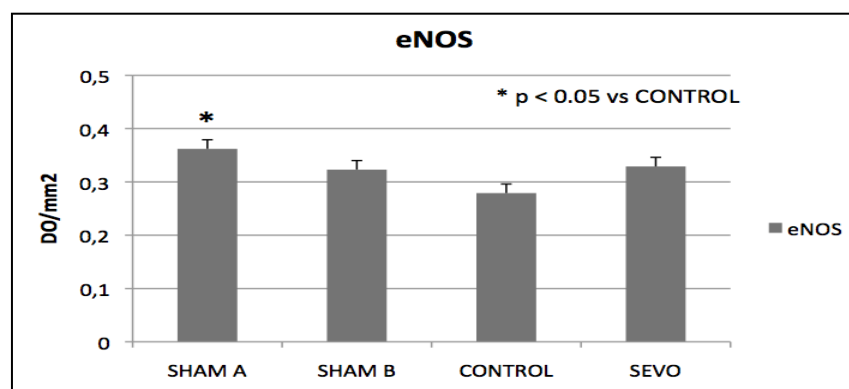


Figura 32. Expresión proteica de eNOS en tejido hepático mediante Western-Blot

- **Expresión del ARNm de eNOS**

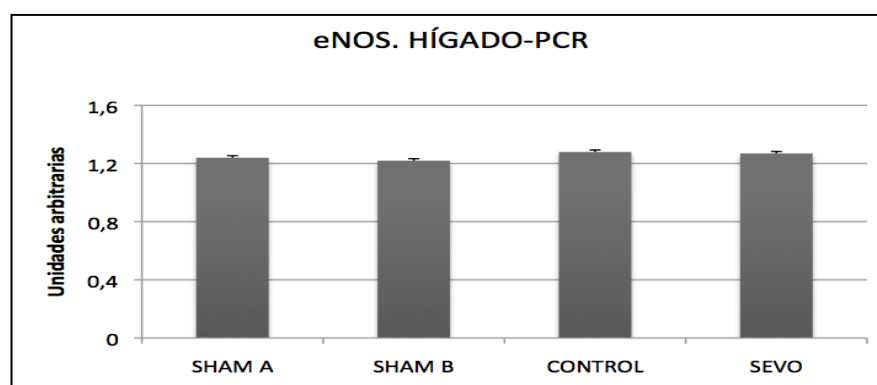


Figura 33. Expresión hepática del ARNm de eNOS

- Resumen/Análisis de las diferentes citoquinas

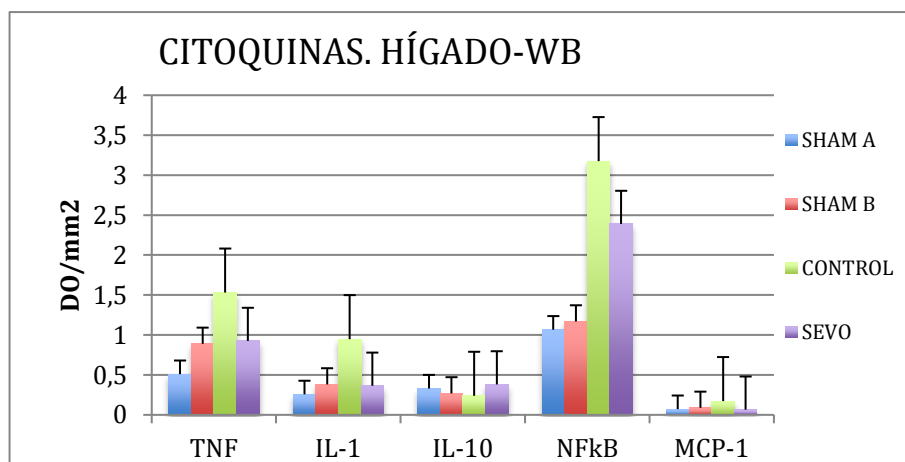


Figura 34. Expresión de las diferentes citoquinas en tejido hepático mediante Western-Blot

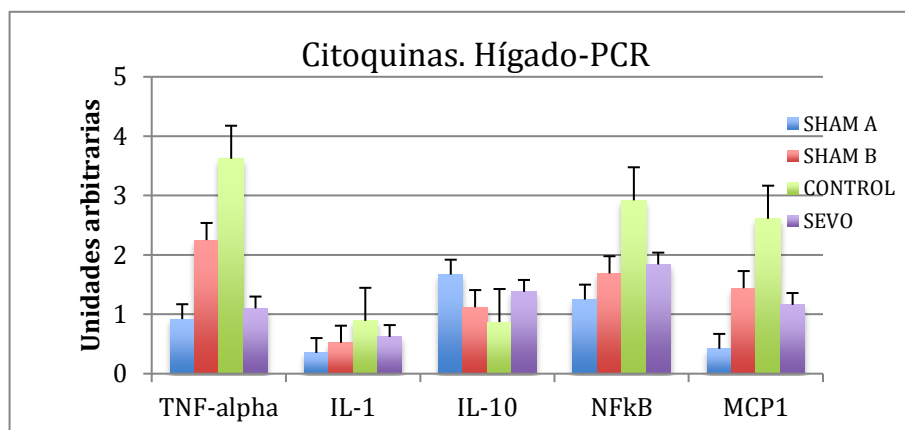


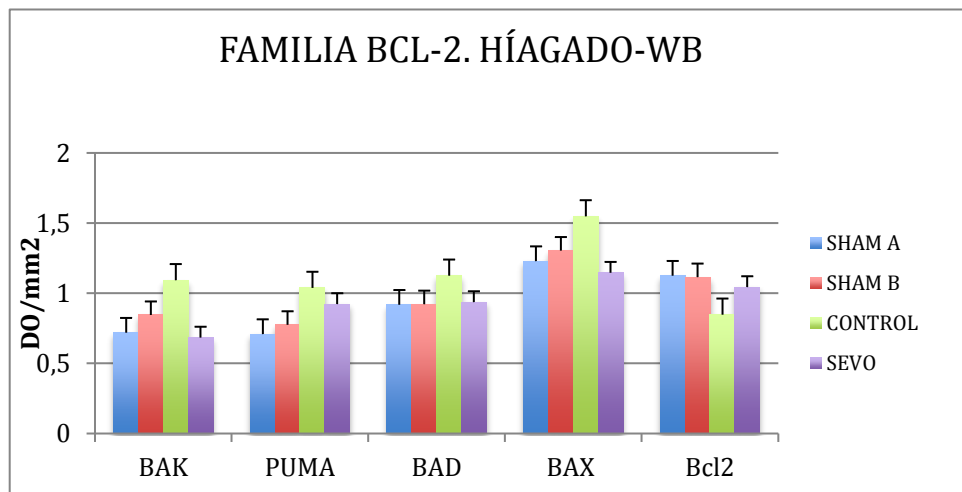
Figura 35. Expresión hepática de ARNm de las diferentes citoquinas y proteínas

CITOQUINAS	SHAM- A	SHAM-B	CONTROL	SEVO
TNF-ALPHA. WB	0,51 (0.06)* $\psi$	0,889 (0.05)*	1,531 (0.21)	0,925 (0.23)*
TNF-ALPHA. PCR	0,92 (0.27)* $\psi$	2,25 (0.40)* $\phi$	3,62 (0.62)	1,1 (0.13)*
NFkB.WB	1,066 (0.04)* $\phi$	1,169 (0.17)* $\phi$	3,176 (0.33)	2,389 (0.36)*
NFkB.PCR	1,25 (0.20)* $\psi\phi$	1,69 (0.18)* $\phi$	2,92 (0.37)	1,84 (0.18)*
MCP-1. WB	0,072 (0.01)*	0,088 (0.02)*	0,173 (0.02)	0,065 (0.01)*
MCP-1. PCR	0,42 (0.08)* $\psi$	1,44 (0.15)* $\phi$	2,61 (1.27)	1,16 (0.50)*
IL-10. WB	0,33 (0.06)*	0,269 (0.03)* $\phi$	0,239 (0.02)	0,381 (0.06)*
IL-10. PCR	1,67 (0.12)* $\psi\phi$	1,12 (0.02)* $\phi$	0,87 (0.09)	1,38 (0.24)*
IL-1. WB	0,257 (0.08)* $\psi$	0,381 (0.07)*	0,948 (0.04)	0,364 (0.04)*
IL-1. PCR	0,35 (0.04)* $\psi\phi$	0,52 (0.04)* $\phi$	0,89 (0.17)	0,62 (0.04)

TABLA 15. Variables bioquímicas sobre la expresión proteica y de ARNm para la diferentes citoquinas en tejido hepático mediante Western Blot y mediante reacción de la cadena de la polimerasa (PCR). Los resultados se expresan como media (Desviación estándar: DE). \*  $p < 0.05$  vs C,  $\phi$   $p < 0.05$  vs SEVO,  $\psi$   $p < 0.05$  vs SHAM B



- **Análisis/Resumen de la familia Bcl2**



**Figura 36. Expresión de la Familia Bcl-2 en tejido hepático mediante Western-Blot**

FAMILIA BCL-2	SHAM-A	SHAM-B	CONTROL	SEVO
<b>BAK</b>	0,719 (0.08)* $\psi$	0,845 (0.12)* $\phi$	1,093 (0.07)	0,684 (0.07)*
<b>PUMA</b>	0,709 (0.17)* $\phi$	0,775 (0.09)* $\phi$	1,038 (0.12)	0,923 (0.10)
<b>BAD</b>	0,918 (0.17)*	0,922 (0.14)*	1,125 (0.08)	0,937 (0.08)*
<b>BAX</b>	1,229 (0.18)*	1,304 (0.17)*	1,548 (0.15)	1,146 (0.04)*
<b>Bcl2</b>	1,125 (0.05)* $\phi$	1,125 (0.07)* $\phi$	0,847 (0.08)	1,044 (0.09)*

**TABLA 16. Variables bioquímicas sobre la expresión proteica y de ARNm para las diferentes proteínas de la familia Bcl-2 en tejido hepático mediante Western-Blot.** Los resultados se expresan como media (desviación estándar: DE). \*  $p < 0.05$  vs C,  $\phi$   $p < 0.05$  vs SEVO,  $\psi$   $p < 0.05$  vs SHAM B

- **Análisis/Resumen de iNOS/eNOS**

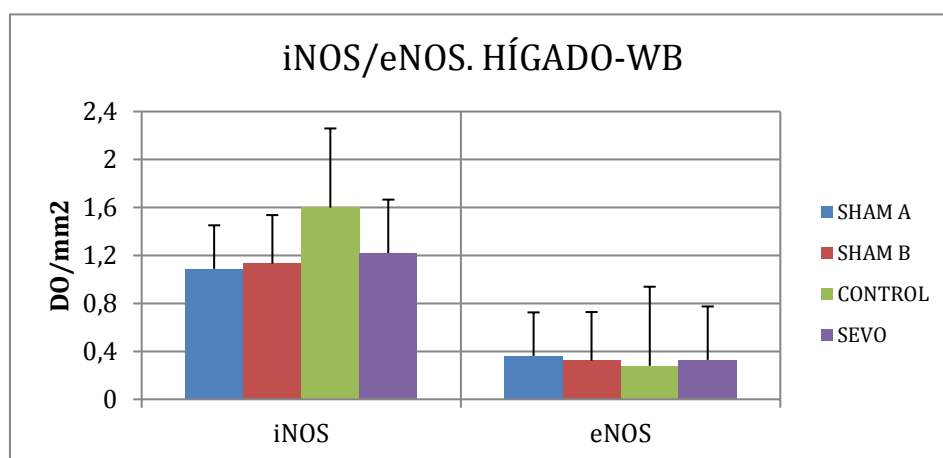


Figura 38. Expresión de iNOS/eNOS en tejido hepático mediante Western-Blot

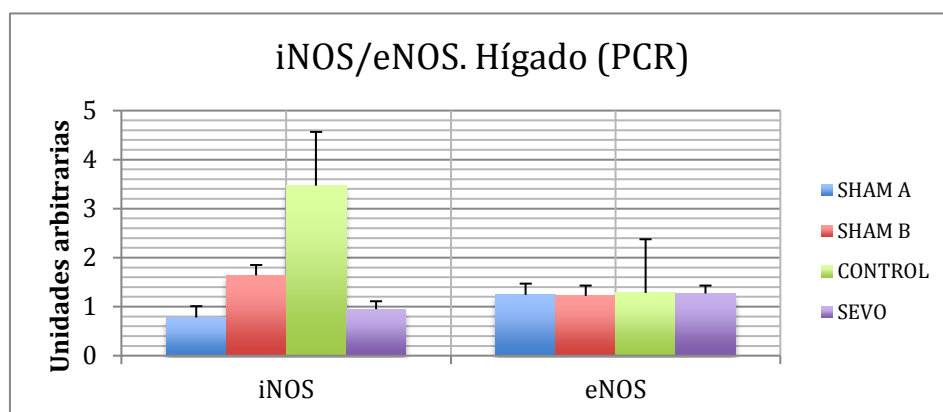


Figura 37. Expresión hepática de ARNm de iNOS/eNOS

iNOS/eNOS	SHAM-A	SHAM-B	CONTROL	SEVO
iNOS. WB	1,088 (0.11)*	1,132 (0.06)*	1,599 (0.22)	1,22 (0.58)*
iNOS. PCR	0,78 (0.23)* $\psi$	1,64 (0.13)* $\phi$	3,47 (0.95)	0,95 (0.15)*
eNOS. WB	0,362 (0.08)*	0,323 (0.05)	0,279 (0.09)	0,329 (0.13)
eNOS. PCR	1,24 (0.06)	1,22 (0.05)	1,28 (0.15)	1,27 (0.19)

TABLA 17. Variables bioquímicas sobre la expresión proteica y de ARNm para iNOS y eNOS en tejido hepático mediante Western-Blot (WB) y reacción de la cadena de la polimerasa (PCR). Los resultados se expresan como media (desviación estándar: DE). \*  $p < 0.05$  vs C,  $\phi$   $p < 0.05$  vs SEVO,  $\psi$   $p < 0.05$  vs SHAM B

# DISCUSIÓN

## **1. MODULACIÓN POR SEVOFLURANO SOBRE LOS EFECTOS SISTÉMICOS DE LA VENTILACIÓN MECÁNICA UNIPULMONAR EN CIRUGÍA DE RESECCIÓN PULMONAR: CITOQUINAS Y APOPTOSIS.**

El principal hallazgo de nuestro trabajo es que la administración de sevoflurano, en comparación con el uso de propofol, atenúa la respuesta inflamatoria sistémica y la apoptosis a nivel hepático tras ventilación unipulmonar en un modelo experimental animal de cirugía torácica mediante toracotomía abierta y lobectomía inferior izquierda. En nuestro experimento, el grupo de cerdos anestesiados con sevoflurano presenta una menor respuesta inflamatoria sistémica y una menor expresión de las proteínas relacionadas con la apoptosis (vía intrínseca) a nivel hepático, al ser comparado con el grupo de cerdos anestesiados con propofol.

El interés sobre los factores protectores a nivel celular que puedan tener los anestésicos volátiles ya fue descrito inicialmente en cirugía cardíaca, donde se demostró sus efectos cardioprotectores (Jakobsen CJ, 2007).

Previamente, ya había sido ampliamente demostrado que el uso de sevoflurano modulaba la respuesta inflamatoria que ocurre a nivel pulmonar en diferentes modelos experimentales y clínicos de daño pulmonar. Concretamente, los anestésicos volátiles (AVs) ejercen un efecto atenuante sobre la secreción de mediadores proinflamatorios, como son la IL-1 $\beta$ , IL-6, MIP-2 y MCP-1 (Giraud O, 2003; Nakamura M, 2000), a través de la disminución en la quimiotaxis de los leucocitos al área pulmonar dañada (Yue T, 2008). Dicha modulación de la quimiotaxis leucocitaria (mayoritariamente en neutrófilos) por AVs, como isoflurano y sevoflurano, se puede producir, entre otras causas, a través de la inhibición en la expresión de moléculas de adhesión celular Beta2-integrinas, como son LFA-1 y MAC-1, esenciales para dicha función quimiotáctica (Yuki K, 2010), así como otro tipo de integrinas presentes en la superficie leucocitaria, como CD11b en los neutrófilos (Möbert J, 1999) y L-selectina en gran parte de leucocitos (Lucchinetti E, 2007). Se sabe que la modulación ejercida de los AVs sobre las Beta2-integrinas se efectúa a nivel molecular a través de la regulación del calcio intracelular, que a la vez regula y activa directamente a las Beta2-integrinas, siendo los receptores NMDA (N-metil-D-aspartato), entre otros, los involucrados en la amplificación de la señal intracelular de calcio que lleva a su activación. Por último, dichos receptores NMDA pueden ser modulados directamente por los AVs, como el sevoflurano. Por otra parte, la disminución de IL-1 y TNF- $\alpha$  en el grupo sevoflurano conllevaría la menor

expresión de moléculas de adhesión en la superficie celular, como ICAM-1 y VCAM-1, a la vez que a la menor expresión de MCP-1, IL-8, IL-6 y menor activación de NFkB, lo que se asocia a una menor activación y extravasación de leucocitos polimorfonucleares, así como otras células del sistema inmune. Junto a la disminución de la quimiotaxis y extravasación leucocitaria producida por sevoflurano, también sabemos que dicho anestésico inhalatorio produce directamente una disminución en el número de neutrófilos, así como de la producción de ERO por estas células inmunes (Fröhlich D, 1997), junto a una disminución en la liberación de citoquinas proinflamatorias, IL-1 y TNF-alpha, cuando se estudia el comportamiento de los polimorfonucleares (PMN) in vitro (Woo JH, 2015) y una disminución en el número de macrófagos en las muestras de los lavados broncoalveolares en animales sometidos a ventilación mecánica (Kalimeris K, 2011).

En estudios clínicos realizados en cirugía de resección pulmonar que precisaban OLV, De Conno y cols. demostraban un incremento en los mediadores alveolares inflamatorios IL-6, IL-8, TNF-alpha, IL1-beta y MCP-1, siendo los valores de estas citoquinas inferiores en el grupo anestesiado con sevoflurano cuando eran comparados con el grupo de los pacientes anestesiados con propofol (De Conno E, 2009). Años antes, Schilling y cols. habían medido las concentraciones de ciertos mediadores inflamatorios alveolares en el pulmón ventilado tras OLV y comprobaban que tanto con desflurano como con sevoflurano existía una supresión de la respuesta inflamatoria medida a nivel local (alveolar) (Schilling T, 2005). En ambos estudios se midieron las concentraciones de citoquinas en los lavados broncoalveolares, y focalizaban su atención sobre los efectos locales del mantenimiento anestésico con sevoflurano.

Sin embargo, en estos estudios no se analizaba cual era el impacto del mantenimiento anestésico con sevoflurano sobre las alteraciones sistémicas y hepáticas que se producen tras el daño pulmonar inducido por la OLV en cirugía de resección pulmonar.

En nuestro trabajo comprobamos que la administración perioperatoria de sevoflurano se relacionó con una menor respuesta inflamatoria sistémica. La justificación de estos resultados abre dos principales posibilidades; la primera se basaría en un potencial efecto sistémico-antiinflamatorio de los AVs y la segunda, en que dicha menor respuesta inflamatoria sistémica sería secundaria al demostrado efecto protector de estos agentes anestésicos sobre el daño pulmonar producido durante la ventilación unipulmonar.

## PRIMERA TEORÍA:

Recientemente, se ha realizado una revisión sistemática y meta-análisis, valorando los efectos que los anestésicos inhalatorios podrían tener sobre la mortalidad y las complicaciones pulmonares u otras complicaciones en los pacientes sometidos a cirugía (Uhlig C, 2016), llegando a la conclusión que en cirugía cardíaca la anestesia general con AVs se asocia a una menor tasa de complicaciones pulmonares u otro tipo de complicaciones y a una reducción de la mortalidad, no pudiéndose afirmar lo mismo cuando hablamos de pacientes sometidos a cirugía no cardíaca, posiblemente debido a la heterogeneidad de los estudios cuando se abarca este tipo de cirugías.

A mediados de los años 90, ya se comenzó a investigar el efecto que podría tener el mantenimiento de la hipnosis durante la anestesia general, bien con propofol bien con un anestésico inhalatorio (isoflurano y sevoflurano), sobre la respuesta inflamatoria sistémica. Crozier y cols, demostraban que en aquellas pacientes sometidas a cirugía de histerectomía abdominal anestesiadas con propofol más alfentanilo mostraban una menor concentración de IL-6 a nivel plasmático que las anestesiadas con isoflurano más óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) (Crozier TA, 1994). Posteriormente, en un trabajo similar también en pacientes histerectomizadas, Gilliland y cols. observaban que aquellas pacientes anestesiadas con propofol presentaban mayores niveles de IL-10 en plasma, aunque sin diferencias en las demás citoquinas (TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1ra), en comparación con las anestesiadas con isoflurano. Existen múltiples estudios clínicos donde no se encuentra diferencias significativas al comparar la respuesta inflamatoria sistémica en los pacientes anestesiados con propofol vs anestésicos inhalatorios, bien isoflurano (Hadade C, 2016; Margarit SC 2014; Delogu G, 1999; Pirttikangas CO, 1995) bien sevoflurano (Qiao Y, 2015; Nakanuno R, 2015; Sofra M, 2013; Orosz JE, 2012; Kvarnström AL, 2012). Los resultados en muchos de estos estudios son explicados por los mismos autores debidos a la falta de impacto quirúrgico secundario a la propia cirugía (tiempo y daño quirúrgico), que implicaría una baja respuesta inflamatoria asociada (Hadade A, 2016; Orosz JE, 2012); con la excepción, teniendo en cuenta este aspecto, de los estudios de Sofra y cols. en pacientes sometidos a cistectomía radical (Sofra M, 2013), de Qiao y cols. en pacientes esofagectomizados por cáncer de esófago, donde demostraban mayores concentraciones de Proteína S-100beta, TNF- $\alpha$  e IL-6 en el grupo sevoflurano, además de presentar dicho grupo una mayor disfunción cognitiva postoperatoria valorada mediante el Mini-Mental State Examination (MMSE) (Qiao Y, 2015) y, por último, también otro estudio en cirugía de

esofagectomía donde se observaba un menor pico plasmático en los valores de PCR en el grupo propofol comparado con sevoflurano (Nakanuno R, 2015). El factor relacionado con la agresividad del acto quirúrgico en cuanto a la valoración de la respuesta inflamatoria, no era observado en el trabajo de Ionescu y cols, donde se observaba una disminución significativa en la elevación de la IL-6 y un aumento de IL-10, aunque también de ICAM-1 y VCAM-1, en pacientes colecistectomizados por vía laparoscópica anestesiadas con propofol cuando son comparados con los pacientes anestesiados con isoflurano (Ionescu DC, 2013). El hallazgo de Crozier pudiera explicarse por el trabajo realizado veinte años más tarde por Kumakura, quien demostró en pacientes mastectomizadas que aquellas a las que se les añadía N<sub>2</sub>O a sevoflurano, presentaban un bloqueo sobre la modulación en la respuesta inflamatoria producida por el sevoflurano a nivel del epitelio en vía aérea, cuando éste era administrado como único agente anestésico, con un aumento en los niveles de IL-1beta, IL-8 y MCP-1 en el grupo N<sub>2</sub>O/sevoflurano vs sevoflurano. En dicho trabajo, no se observaban diferencias al comparar los grupos sevoflurano y propofol, cuando eran administrados como anestésicos únicos (Kumakura S, 2013). De forma similar a lo observado en el trabajo de Crozier, Schneemilch CE y cols., encontraban que en el grupo sevoflurano+nitroso se obtenían valores de IL-6 plasmáticos significativamente mayores en comparación al grupo anestesiado con propofol en un estudio clínico de pacientes sometidos a discectomía parcial (Schneemilch CE, 2005), aunque no poseía grupo con sevoflurano sólo como agente anestésico. Una cirugía donde claramente se ha demostrado que la respuesta inflamatoria se encuentra más atenuada con propofol vs sevoflurano es la neurocirugía, como demostraba el trabajo de Markovic-Bozic y cols., encontrando un aumento de IL-10 en plasma y una ratio menor IL-6/IL-10 en el grupo propofol en pacientes sometidos a craneotomía (Markovic-Bozic J, 2016). Con respecto a este enfoque, el sevoflurano ha demostrado en estudios experimentales producir una activación de la microglia, favoreciendo una acumulación de IL-6 y TNF-alpha, junto a un empeoramiento cognitivo en los sujetos a estudio (Shen X, 2013). Existen otros trabajos donde la balanza se inclina a favor del propofol al valorar la atenuación de la respuesta inflamatoria. Por ejemplo, el estudio de El Azab y cols., demostraba menores niveles de IL-6 plasmáticos en los pacientes sometidos a by-pass coronario anestesiados con propofol vs sevoflurano, aunque estas diferencias sólo estaban presentes en el momento previo al by-pass cardiopulmonar y no en el postoperatorio; lo que iría a favor de nuestro estudio, pues es sabida la respuesta inflamatoria que conlleva la circulación extracorpórea y la necesidad de reposo y colapso pulmonar mediante la misma, por lo que se podría desprender que el mantenimiento anestésico con sevoflurano hubiera atenuado el aumento de IL-6 en el postoperatorio (El Azab SR, 2002).

A nivel experimental con animales (cerdos), también existe un estudio donde se mostraba una atenuación de la respuesta inflamatoria con propofol vs sevoflurano. En dicho estudio se les sometía a los animales a by-pass aorto-aórtico con un clampaje de 30', observando que aquellos cerdos anestesiados con propofol presentaban menores concentraciones de mieloperoxidasa, TNF-alpha, IL-1beta, anión superóxido y superóxido dismutasa, junto a una disminución en la expresión de NFkB e iNOS cuando eran comparadas con el grupo de cerdos anestesiados con sevoflurano (Sánchez-Conde P, 2008).

## SEGUNDA TEORÍA

En nuestro trabajo, hemos observado como la ventilación mecánica produce una propagación de mediadores inflamatorios a lo largo del organismo, como ya ha sido demostrado que puede afectar a otros órganos como riñón, intestino e hígado (Yulug, 2007). Además, incluso con estrategias ventilatorias que podríamos etiquetar de menos lesivas o protectoras, al no producirse estas claras lesiones tisulares, se pueden provocar la liberación de mediadores inflamatorios a través de la activación de la cascada de señalización secundaria al estiramiento celular de la estructura alvéolo-endotelial (Wolthuis EK, 2009), a lo cual denominamos daño producido por la mecano-transducción. La ventilación unipulmonar, presenta entre otros acontecimientos fisiopatológicos, todo lo acontecido a la propia ventilación mecánica pulmonar y por lo tanto, estas dos características, descompartimentalización y mecano-transducción, se encuentran inherentemente presentes en su ejecución y desarrollo. Dichas fuerzas físicas descritas pueden causar la liberación de diferentes mediadores intracelulares (Tremblay L, 1997), bien directamente por daño celular o indirectamente a través de vías de señalización celular a nivel epitelial, endotelial o sobre células inflamatorias. La translocación de los mediadores inflamatorios (IL-6, IL-8 y TNF-alpha) desde los espacios aéreos al torrente circulatorio puede incrementar por sí mismo la permeabilidad alvéolo-capilar, a la vez que puede dirigir a múltiples disfunciones orgánicas distintas al propio pulmón e, incluso, provocar la muerte (Slutsky AS, 2000; Ranieri VM, 1999; Slutsky AS, 1998). El sevoflurano modularía ambas vías patogénicas relacionadas con el aumento de la respuesta inflamatoria sistémica y la respuesta inflamatoria sobre órganos distintos al pulmón, como el hígado. Por un lado, hemos hablado de la modulación que el sevoflurano produce sobre la quimiotaxis leucocitaria a través de la inactivación o disminución en la expresión de proteínas de adhesión celular que disminuiría la extravasación de los propios leucocitos al torrente



sanguíneo a través de la barrera alvéolo-capilar, junto también a la menor liberación de mediadores inflamatorios a la circulación sanguínea (Haitsma JJ, 2000; Tutor JD, 1994). Esta propiedad del sevoflurano sobre la supresión en la adhesión de los polimorfonucleares es, incluso, más pronunciada y con un peso más importante desde el punto de vista antiinflamatorio en situaciones de isquemia-reperfusión, como se ha demostrado por su efecto cardioprotector (Tanaka K, 2004), fenómeno que, como sabemos, ocurre durante la finalización de la ventilación en OLV y su reconversión al ventilación bipulmonar. Por otro lado, centrándonos en el proceso fisiopatológico de la mecano-transducción, hemos expuesto como dicho estrés físico de la VM activa el sistema nervioso simpático (Plotz FB, 2004), siendo propuesta la estimulación de los nervios simpáticos terminales como la causa que evocaría una respuesta inflamatoria en órganos distales al pulmón (Elenkov IJ, 2000; Straub RH, 2000). El sevoflurano modularía dicha respuesta gracias a su efecto inhibitor del sistema simpático a dicho nivel, por lo que disminuiría las catecolaminas liberadas y por lo tanto, se produciría una menor activación en la transcripción de factores como NFkB en los macrófagos y, por ende, una menor producción de IL-1, TNF e IL-8, con una menor respuesta de fase aguda a nivel hepático, posiblemente a través de la modulación de la vía de activación alfa-adrenérgica (Flierl MA, 2009; Elenkov IJ, 2000; Spengler RN, 1990). En relación al concepto de estrés alveolar por VM, se ha demostrado como la VM induce una activación per se en el endotelio pulmonar en ratones sanos, con un aumento de E-selectina y V-CAM, por lo que facilitaría la migración y adhesión de las células activadas del sistema inmune y, además, parece que también la VM produce por sí misma una up-regulation de dichas moléculas de adhesión celular, no sólo en el pulmón, sino también en órganos distales como riñón e hígado (Hageman MA, 2009). También se ha expuesto en la introducción, cómo el pulmón es capaz de amplificar y perpetuar en el tiempo la respuesta inflamatoria sistémica, siendo el proceso inflamatorio pulmonar-sistémico bidireccional. Debido a la descompartmentalización descrita, los mediadores proinflamatorios como son las citoquinas (IL-1, TNF-alpha...) derivados de una primera respuesta inflamatoria local en el pulmón, secundaria a la VM, son capaces tras su extravasación al torrente circulatorio de provocar e inducir la expresión de moléculas de adhesión celular en la superficie hepática (Walker MG, 2011; Walker MG, 2009; Markovic N, 2009,). A la vez, dichos mediadores inflamatorios son regulados al alza por el tejido hepático (Patterson EK, 2013). Con respecto a este proceso inflamatorio sinérgico bidireccional pulmón-hígado, la vía de señalización NFkB cobra vital importancia, ya que la activación de NFkB dirige a una regulación al alza de las moléculas de adhesión tanto en células endoteliales como leucocitarias y a una regulación transcripcional de una amplia serie de citoquinas (Lawrence T,

2009). Así como una ampliación en la expresión de citoquinas proinflamatorias en tejido hepático secundario a VM (Patterson EK, 2013). Por lo tanto, el daño pulmonar tras VM sirve como origen primario en la respuesta inflamatoria sistémica, siendo esta señal propagada a órganos periféricos, como el hígado, a través de citoquinas IL-6, IL-1beta, TNF-alpha... siendo amplificada la señal por dichos órganos. Por lo tanto, la inhibición de la vía de señalización NFkB dependiente podría mitigar dicha respuesta y esto es lo que observamos en nuestro estudio, al demostrar cómo el grupo los animales anestesiados con sevoflurano presentan una menor expresión del factor de transcripción NFkB a nivel hepático al ser comparados con el grupo propofol.

Nosotros medimos las concentraciones en muestras sanguíneas y en el tejido hepático de las citoquinas IL-1beta, TNF-alpha e IL-10, ya que el objetivo de nuestro estudio era analizar el impacto del sevoflurano sobre la respuesta inflamatoria sistémica secundaria a ventilación unipulmonar en cirugía de resección pulmonar. Previamente, Potočnik y cols. (Potočnik I, 2014) demostraban un aumento significativo en los niveles sanguíneos de IL-6 en el grupo propofol en comparación con el grupo sevoflurano en pacientes sometidos a cirugía de resección pulmonar, siendo también mayores, aunque no significativos, los niveles de IL-8 posiblemente debido a que dicha citoquina se libera de forma más lenta a la circulación sanguínea (Zingg U, 2010) y a que su trabajo posee un tiempo limitado de monitorización a sólo las primeras 6 horas postoperatorias. En dicho trabajo, también se observaba una disminución de los niveles de la citoquina antiinflamatoria IL-10 en el grupo propofol con respecto al grupo de los pacientes anestesiados con sevoflurano, lo que estaría a favor de la evidencia que el sevoflurano posee efectos antiinflamatorios y que concuerda con nuestras observaciones. Hallazgos similares se han producido, anteriormente, en otro tipo de cirugías distintas a la cirugía torácica, también con gran respuesta inflamatoria asociada, como es la cirugía abierta (laparotomía) de reparación de aorta abdominal, donde se observaban menores niveles de IL-8 y MCP-1 y mayores de IL-6 y MMP-9 en el grupo de pacientes anestesiados con sevoflurano al ser comparados con aquellos anestesiados con propofol (Lindholm EE, 2015). Como vimos en la introducción, la IL-8 es una interleuquina que se encuentra relacionada en mayor medida al VILI que la IL-6 y esto podría ser un motivo por el que el sevoflurano atenúe en mayor medida los niveles de IL-6 (Uhlig U, 2003; Oudin S, 2002).

Schilling reclamaba que la mayor limitación de su estudio era el corto periodo observacional en el postoperatorio: las concentraciones de citoquinas fueron determinadas inmediatamente tras la intubación y al final de la cirugía, previa extubación. En nuestro estudio, recogimos muestras sanguíneas en varios estadios a lo largo del procedimiento de cirugía de resección pulmonar y a las 24 horas del postoperatorio. Medimos otra serie de citoquinas relacionadas con la respuesta inflamatoria, como son IL-1beta, IL-10 y TNF-alpha, a pesar de que esta última posee una vida media muy corta y es difícil para su detección. Nuestros resultados muestran unas menores concentraciones de la principal citoquina antiinflamatoria (IL-10) y unas mayores concentraciones a nivel plasmático de IL-1, TNF-alpha y proteínas implicadas y que se encuentran asociadas a un aumento de la respuesta inflamatoria, como son MCP-1 y NFkB en el grupo propofol que el grupo sevoflurano, confirmando el efecto antiinflamatorio del sevoflurano. El NFkB juega un papel fundamental como mensajero común en la regulación de citoquinas y en la respuesta inflamatoria; así, en modelos experimentales, el bloqueo de NFkB demostraba una disminución en el VILI (Held HD, 2001; Dos Santos CC, 2000; Pugin J, 1998). De los resultados obtenidos en nuestra investigación, pensamos que una de las razones de la disminución de las citoquinas inflamatorias, sería el bloqueo de la actividad del NFkB.

Previamente se ha descrito que los AVs a nivel pulmonar pueden modular la respuesta inflamatoria (Shayevtitz JR, 1991) y proteger frente al daño oxidativo (Casanova J, 2011). De acuerdo con esto, hemos observado que el sevoflurano, de forma semejante a lo observado en pulmón por nuestro grupo de trabajo en un modelo porcino de autotrasplante pulmonar (Casanova J, 2011), redujo la expresión de las citoquinas proinflamatorias a nivel hepático, tanto a nivel de ARNm como proteico, de TNF-alpha e IL-1beta. Además, en modelos anteriores de isquemia-reperfusión pulmonar, el preconditionamiento anestésico con sevoflurano también redujo la expresión a nivel hepático de MCP-1 y NFkB y aumentó la expresión de la citoquinas antiinflamatoria, IL-10 (Rancan L, 2014), hallazgos idénticos a los observados en nuestro trabajo. Esto sugiere que el mantenimiento anestésico con sevoflurano contribuye al mantenimiento del balance entre citoquinas pro y anti-inflamatorias.

El estudio clínico más contrapuesto, en cuanto a hallazgos se refiere, compartiendo una metodología similar con respecto a nuestro estudio, es el realizado por Yin y cols. (Yin Y, 2013) en pacientes tras lobectomía inferior izquierda mediante toracotomía, comparando dos grupos según la anestesia empleada, sevoflurano y propofol. En éste se demuestra que los pacientes anestesiados con propofol presentan menores valores de TNF-alpha e IL-6 y mayores de IL-10 cuando son comparados con el grupo sevoflurano. La explicación a estos hallazgos sería, según el autor, la correlación existente entre el sevoflurano y el edema pulmonar y la reducción en la generación de surfactante pulmonar. Es cierto, que en este estudio se puede hacer un pequeño énfasis crítico en la concentración de mantenimiento anestésico que se utilizaba de sevoflurano, llegando al 3%, lo cual podría influir de forma negativa (inhibición) en la vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH) y por lo tanto, influir negativamente en la respuesta inflamatoria en el pulmón operado, con un aumento de la misma. (Wanderer AA, 2011)

## METABOLISMO DEL ÓXIDO NÍTRICO

Como ya se mencionó en la introducción, el NO tiene un efecto dicotómico. La producción de pequeñas cantidades de NO por la isoforma eNOS reduce el daño que se produce en los fenómenos de isquemia-reperfusión, mientras que su sobreproducción por la activación de la isoforma iNOS se asocia a efectos deletéreos. A nivel pulmonar, se ha observado que cuando las células endoteliales son sometidas a fuerzas de estrés y a presiones pulmonares muy elevadas tras neumonectomías, dichos cambios podían inducir alteraciones en las vías de señalización celular, incluyendo la producción de ERO y NO (Klingstedt C, 1990). En nuestro trabajo, observamos como prácticamente no existen variaciones en cuanto los niveles de eNOS a las 24 horas a nivel hepático, pero en cambio sí existe un aumento significativo de los niveles de iNOS en el grupo CONTROL y dicho aumento es bloqueado en el grupo sevoflurano de forma significativa. El sevoflurano influye en la expresión de la isoenzima inducible de NO (iNOS), a través de la inhibición reversible de los canales calcio-voltaje-dependientes y por la disminución en la concentración de calcio intracelular y, por lo tanto, disminuye la expresión de iNOS, como observamos en nuestro estudio cuando comparamos el grupo sevoflurano con el grupo CONTROL.

## APOPTOSIS

La isquemia-reperfusión que ocurre en CRP cuando se precisa de OLV puede activar los procesos de muerte celular por apoptosis. La hipoxia, el aumento de los niveles de Calcio, el NO y/o las citoquinas parecen estar implicados en este proceso y son considerados como señales pro-apoptóticas. Las caspasas juegan un papel central en la transducción de las señales apoptóticas, como ya vimos en la introducción al hablar de la vía extrínseca de la apoptosis. Entre las citoquinas, TNF- $\alpha$  es considerado como uno de los mediadores extrínsecos de apoptosis más importantes. Por otro lado, NF $\kappa$ B parece jugar un papel central modulando la apoptosis secundaria a la isquemia-reperfusión, a través de un mecanismo que implica la inhibición, hipoxia-dependiente, de los sensores de oxígeno (Cummins EP, 2006). En nuestro estudio, nosotros nos centramos en la vía intrínseca o “mitocondrial” de la apoptosis con la determinación de los niveles de los componentes de la familia Bcl-2 a nivel hepático. Observando que el mantenimiento anestésico con sevoflurano disminuye de forma significativa la expresión de aquellas proteínas de la familia Bcl-2 proapoptóticas (Bax, Bad, Bak, PUMA) con respecto al grupo CONTROL, y en cambio, se observa un aumento significativo de la proteína anti-apoptótica Bcl-2 en el grupo SEVOFLURANO, por lo que podemos extrapolar que el sevoflurano no solo protege frente al desequilibrio inflamatorio sino también frente a la apoptosis a nivel hepático secundaria a OLV en cirugía de resección pulmonar. El mecanismo por el que el sevoflurano ejerce este efecto protector frente a la apoptosis en hígado secundaria a la OLV pulmonar no está totalmente aclarado. Una de las razones que podría explicar este hallazgo, aunque sea de forma indirecta, es la menor expresión de TNF- $\alpha$ , citoquina que se encuentra entre los estímulos extracelulares que inducen a la apoptosis celular. Además, otro factor potencialmente modulable por sevoflurano sería su efecto sobre los niveles del calcio citoplasmático durante el daño celular producido por la isquemia-reperfusión, como hemos visto a través de la modulación en los receptores NMDA, o sobre el aumento en las ERO.

Los niveles de NO también pueden afectar a la expresión de los miembros de la familia Bcl-2. Diversos estímulos, como las citoquinas IL-1 y TNF- $\alpha$ , así como NF $\kappa$ B, pueden incrementar la transcripción del gen iNOS, con la consiguiente producción de NO. Así, el grupo sevoflurano al presentar una menor respuesta inflamatoria, puede indirectamente, disminuir la actividad pro-apoptótica a nivel hepático. Además, también observamos que la expresión de

eNOS en el grupo SEVO es menor, lo cual se asocia a menor daño en los fenómenos de isquemia-reperusión. En cambio, la sobreexpresión de iNOS se asocia con los efectos deletéreos expuestos.

## FACTORES AGRAVANTES SOBRE LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN CRP

Como ya se ha indicado anteriormente, la ventilación unipulmonar provoca intensos cambios fisiopatológicos en la ventilación y la perfusión pulmonar. En este aspecto, se ha sugerido que la ventilación unipulmonar per se puede inducir una respuesta proinflamatoria, incluyendo liberación de citoquinas y migración de leucocitos en el pulmón ventilado (Zingg U, 2010). De hecho, se han observado respuestas inflamatorias de carácter agudo en todos los contextos quirúrgicos que implican OLV, cuantitativamente superiores a las observadas en otras cirugías que conllevan ventilación bipulmonar (Grichnik KP, 2004; Sakamoto K, 1994). En nuestro estudio, con objeto de clarificar la contribución de la OLV al daño secundario a la cirugía de resección pulmonar, hemos incluido un grupo de estudio en el que se realizó ventilación unipulmonar, pero no cirugía de resección pulmonar (OLV-SHAM B). Gracias a este modelo hemos podido observar que se produce una intensa alteración de la respuesta inflamatoria sistémica principalmente debida a la OLV. Observamos además, que estas alteraciones eran evidentes desde momentos del inicio de OLV hasta las 24 horas postcirugía.

La respuesta inflamatoria en cirugía de resección pulmonar (CRP) se encuentra afectada por la duración de la cirugía, el uso de ventilación mecánica, el tiempo en OLV y el trauma quirúrgico (Misthos P, 2006). En nuestro trabajo, dichos factores pueden ser excluidos al comparar los grupos sevoflurano vs propofol, debido a que no existen diferencias en el tipo ni en la duración del procedimiento, el tiempo en OLV ni en la variabilidad del acto quirúrgico, pues fue realizado por el mismo equipo de cirujanos y anestesiólogos.

La respuesta inflamatoria puede verse aumentada debido a la hipoxia (Wanderer AA, 2011). Sin embargo, en nuestro estudio todos los grupos son equiparables en cuanto a valores gasométricos a nivel arterial como hemodinámicos durante todo el procedimiento, sin diferencias significativas entre ellos, salvo en el tiempo de medida OLV 120 minutos, donde el grupo sevoflurano presenta mayor pO<sub>2</sub> de forma significativa con respecto al grupo CONTROL.

La transfusión sanguínea también puede causar DPA (Zah-Bogovic T, 2014). Sin embargo, esto queda excluido en nuestro estudio pues no se realizó este tipo de terapia en los sujetos a estudio.

Además, en OLV no solamente se ve afectado el pulmón sometido a cirugía de resección pulmonar (no ventilado), sino que también son evidentes las alteraciones en el pulmón ventilado con OLV, sugiriendo una influencia importante de este procedimiento ventilatorio en la respuesta inflamatoria y daño pulmonar secundario asociado al procedimiento quirúrgico. La OLV podría desencadenar un proceso inflamatorio por sí misma, lo cual ya había sido observado en estudios previos (Cree RT, 2004; Baudouin SV, 2003). Este aumento se asocia a la presencia de edema pulmonar, lo cual refleja el daño pulmonar que se produce como consecuencia de la respuesta inflamatoria y estaría de acuerdo con estudios previos que ya habían descrito una respuesta molecular similar (Baoudouin SV, 2003).

Por lo tanto, parece claro que la OLV es un factor clave que condiciona el grado de daño pulmonar postoperatorio en la cirugía de resección pulmonar. Aquellas técnicas encaminadas a atenuar la agresión que supone esta técnica de ventilación (limitación de presión de ventilación, restricción de fluidos, acortar duración de la OLV...) podrían, por lo tanto, ayudar a atenuar el grado de daño pulmonar postoperatorio de los pacientes sometidos a CRP que precisen de este modo ventilatorio.

Por otro lado, la medición de los mediadores inflamatorios 24 horas después de la cirugía en las muestras plasmáticas, podría resultar útil para una futura aplicación clínica ya que nos permitiría evaluar de manera poco invasiva la evolución y pronóstico del paciente.

El biotrauma pulmonar causante del DPA, como vemos, no solo es confinado a los pulmones, si no que se produce un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) y apoptosis en órganos a distancia como ya se ha observado en estudio anteriores (Imai Y, 2003).

En resumen, nuestros resultados parecen indicar que el DPA tras OLV no es solo un fenómeno local sino que a través de la liberación de mediadores proinflamatorios a la circulación sistémica puede inducir una respuesta sistémica y apoptótica que afectaría a otros

órganos remotos, como el hígado. Además, nuestros resultados indican que el sevoflurano bloquearía dicha respuesta inflamatoria y apoptótica a nivel sistémico y hepático y potenciaría la respuesta antiinflamatoria a nivel local. Esto sugiere que el tratamiento utilizado se debería dirigir a ambas respuestas, local y sistémica. Nuestros resultados están, por lo tanto, de acuerdo con los estudios anteriores y confirman la capacidad del sevoflurano de modular la respuesta inflamatoria sistémica.

## **2. EFECTOS DE LA VENTILACIÓN MECÁNICA UNIPULMONAR SOBRE EL GLICOCÁLIX EN CIRUGÍA DE RESECCIÓN PULMONAR: MODULACIÓN POR SEVOFLURANO**

En nuestro experimento, el grupo de cerdos anestesiados con sevoflurano presenta unos menores niveles plasmáticos de componentes relacionados con la degradación del glicocáliz endotelial: heparán sulfato, syndecan-1 y cathepsina B, comparado con el grupo de cerdos anestesiados con propofol.

Existen diversas situaciones clínicas donde se ha observado la degradación del glicocáliz en el transcurso de una intervención quirúrgica. Así, en situaciones de isquemia bien a nivel orgánico o bien a nivel de miembros corporales-distales seguidas por fenómenos de reperfusión como pueden ser la cirugía de bypass cardiopulmonar, la reparación del arco aórtico y las paradas cardíacas en hipotermia profunda, se ha observado una consistente elevación de los niveles de syndecan-1 y heparán sulfato en sangre (Rehm M, 2007). Es interesante remarcar que los fenómenos de hipoxia/reoxigenación causan un deterioro similar del glicocáliz en modelos experimentales (Annecke T, 2011). Otras situaciones que dirigen con mucha probabilidad a la disrupción o degradación del glicocáliz son aquellas en las que se produce una sobrecarga de volumen mediante fluidoterapia, esto produciría un aumento en el estrés de las paredes capilares de la aurícula cardíaca, con el consiguiente estímulo en la liberación de péptido natriurético auricular (PNA) y la elevación de syndecan-1 y ácido hialurónico (Chapell D, 2014; Curry FR, 2005). De hecho, parece que es el PNA tipo B a través de una cascada de señalización intercelular, el que produciría un aumento de la degradación del glicocáliz y una elevación de citoquinas inflamatorias (IL-6 e IL-8) (Curry FR, 2005). Otras situaciones clínicas donde se ha observado deterioro a nivel del glicocáliz son mayoritariamente la sepsis e inflamación (Chappell D, 2014; Chappell D, 2009), la enfermedad renal (Padberg JS, 2014), la vasculopatía diabética (Nieuwdorp M, 2006; Van der Berg BM, 2006) y la aterosclerosis (Schmidt EP 2014; Schmidt EP, 2012).



En relación al pulmón, se ha observado que situaciones de fallo respiratorio asociados a sepsis presentan alta actividad de heparanasa en sangre y tejido pulmonar y elevados niveles de heparán sulfato y hialuronato en plasma (Schmidt EP, 2014; Schmidt EP, 2012). La alteración en la membrana alveolo-capilar y, en particular, del glicocálix endotelial, parece jugar un papel crucial en el daño pulmonar. La rotura o disrupción del glicocálix está presente en todos los tipos de daño pulmonar (Schmidt EP, 2014) y dicha rotura se considera un componente integral en la formación de edema, permeabilidad capilar e inflamación (Collins SR, 2013). En cualquier situación de daño pulmonar, como puede ser la ventilación unipulmonar, la degradación del glicocálix promueve la adhesión de PMN (Schmidt EP, 2012) y su extravasación al torrente circulatorio. Los PMN contienen enzimas proteolíticas, incluyendo serin-proteasas y proteinasa-3. Esto es un hecho importante y ya lo vemos reflejado en clínica, cuando se realiza en los bancos de sangre la depleción leucocitaria a los concentrados de hematíes para transfusión sanguínea, pues dichos leucocitos preactivados en ocasiones podrían ser los responsables de iniciar las complicaciones pulmonares de las transfusiones, como el TRALI (transfusion related acute lung injury, daño pulmonar relacionado con la transfusión) (Donati A, 2014).

El uso de sevoflurano ya había demostrado proteger el glicocálix en dos estudios experimentales sobre fenómenos de isquemia-reperfusión a nivel cardiaco en cerdos (Chappell D, 2011; Annecke T, 2010). En ambos se demostraba una menor liberación a nivel del endotelio coronario de heparán sulfato y syndecan-1 cuando los animales eran tratados con sevoflurano y, por lo tanto, una disminución en su degradación, incluso en el segundo estudio se observaba una disminución en la liberación lisosomal de cathepsina B en el grupo sevoflurano, lo cual podría ser la explicación de la menor degradación del glicocálix (Annecke T, 2010). Nuestro grupo (Rancan L, 2016) ha demostrado, en un modelo experimental de isquemia-reperfusión en cirugía de resección pulmonar, un aumento en la degradación del glicocálix, observando bajos niveles de Syndecan-1 y heparán sulfato en muestras de tejido pulmonar junto a niveles más altos de estos dos componentes del glicocálix en plasma. Recientemente, también nuestro grupo de trabajo, en un modelo experimental de autotrasplante pulmonar en cerdos, observa que el preconditionamiento anestésico con sevoflurano protege contra la degradación del glicocálix a nivel endotelial pulmonar en los fenómenos de isquemia-reperfusión (Casanova J, 2016).

En OLV existe una redistribución del flujo pulmonar debido a la VPH, la gravedad (si el paciente se encuentra en decúbito lateral) y a la manipulación quirúrgica del pulmón colapsado (Ishikawa S, 2010). En cerdos, específicamente, la OLV produce una desviación casi completa del flujo sanguíneo pulmonar hacia el pulmón ventilado y esa hiperperfusión se mantiene durante 45 minutos después de la reconversión a ventilación bipulmonar (Kozian A, 2008). Los estudios histopatológicos evidencian un incremento del edema intersticial y microhemorragias en el pulmón ventilado después de OLV, apoyando el hecho del daño producido por la hiperperfusión. Este podría ser uno de los mecanismos de daño a nivel del glicocáliz en respuesta a altas presiones a nivel capilar, resultando en un incremento de la permeabilidad vascular (Dull RO, 2012; Chappell D, 2011).

Nuestro trabajo corrobora todos estos datos, observando un aumento de heparán sulfato y syndecan-1 en sangre en el grupo CONTROL, ya a los 120 minutos de iniciada la ventilación unipulmonar (OLV120) y permaneciendo dicha elevación de forma significativa a las 24 horas del postoperatorio. Además, observamos como dicha elevación queda bloqueada casi por completo desde esos primeros instantes al realizar el mantenimiento anestésico con sevoflurano, indicándonos una menor degradación del glicocáliz, incluso con niveles similares a los que se producen en sujetos a los que no son sometidos a OLV (SHAM-A) y también a aquellos los que sí se someten a OLV, pero sin cirugía (SHAM-B). Esta disminución en la degradación del glicocáliz se encuentra relacionada con la menor expresión en los niveles de cathepsina B, una de las enzimas que actúa sobre la degradación del glicocáliz, en la que aunque no existen diferencias significativas entre grupos, sí podemos observar como sus niveles son menores en el grupo SEVOFLURANO con respecto al grupo tratado con propofol (salvo en el tiempo 2LV60), lo cual está en concordancia con estudios previos (Annecke T, 2010). También hemos expuesto en la introducción como la IL-1 y TNF- $\alpha$  inducen la liberación de cathepsina B por parte de los macrófagos (Liuzzo JP, 1999), además dichas citoquinas incrementan la actividad de cathepsina B y S en las células dendríticas, dirigiendo a la formación incrementada de complejos MHC de clase II y el reconocimiento celular por células T. Todo esto sería un factor importante que pudiera explicar sus menores niveles en el grupo sevoflurano versus propofol, pues en este grupo los niveles de IL-1 y TNF son menores y por tanto el estatus inflamatorio, tanto local como sistémico, es menor. Una de las principales funciones del glicocáliz, en concreto de los GAGs durante el proceso inflamatorio, es la regulación en el reclutamiento leucocitario. Por lo tanto, podríamos concluir que al presentar

una menor degradación del glicocálix el grupo sevoflurano, existiría una mejor regulación sobre la extravasación, transcitosis y quimiotaxis leucocitaria (Pomin VH, 2015) y, por lo tanto, una mejor regulación en la respuesta inflamatoria con una menor translocación de citoquinas y células inflamatorias. Se ha demostrado que HS induce la maduración fenotípica de células dendríticas murinas inmaduras (Kodaira Y, 2000). Dichas células son estimuladas por HS, con la consiguiente liberación de TNF-alpha, IL-1 beta e IL-6. A la vez, TNF-alpha e IL-1 son capaces de activar a las células dendríticas. Sevoflurano sería capaz de modular esta respuesta inflamatoria “circular” al disminuir indirectamente la liberación de TNF-alpha e IL-1. Otro de los mecanismos, en este caso directo, que se propone para explicar la menor degradación del glicocálix endotelial en los sujetos anestesiados con sevoflurano, es por el propio carácter lipofílico de este anestésico inhalatorio, que llevaría a un efecto estabilizador en la membrana lisosomal (Lee HT, 2006).

La estabilización del glicocálix mediante terapia farmacológica ha sido alcanzado con hidrocortisona y antitrombina, lo cual podría ser un punto de actuación para terapias profilácticas en el futuro (Chappell D, 2009; Chappell D, 2007). La posibilidad de identificar este daño de manera poco invasiva podría tener relevancia para una posible aplicación clínica ya que nos permitiría monitorizar, en el paciente hospitalizado, no solamente el proceso inflamatorio, sino también alteraciones del endotelio. Estos resultados, por lo tanto, sugieren que la pérdida de integridad del glicocálix juega un papel fundamental en la patogénesis subyacente de la ventilación mecánica en OLV en cirugía de resección pulmonar.

# CONCLUSIONES

1. La ventilación unipulmonar indujo una respuesta inflamatoria hepática caracterizada por un desequilibrio entre las citoquinas pro y antiinflamatorias. La ventilación unipulmonar también indujo una respuesta apoptótica en el parénquima hepático. Estos efectos fueron acompañados por una alteración en la integridad del glicocáliz.
2. El mantenimiento anestésico con sevoflurano parece proporcionar protección remota hepática desde los primeros momentos de la ventilación unipulmonar en cirugía de resección pulmonar mediante modulación de los mediadores de respuesta inflamatoria y apoptótica en el tejido hepático.
3. El mantenimiento anestésico con sevoflurano parece atenuar la degradación del glicocáliz endotelial-pulmonar desde los primeros momentos de ventilación unipulmonar en cirugía de resección pulmonar.

# BIBLIOGRAFÍA

1. Abraham E, Carmody A, Shenkar R, Arcaroli J. Neutrophils as early immunologic effectors in hemorrhage- or endotoxemia-induced acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2000;279(6):L1137-45.
2. Abu-Amara M, Gurusamy K, Hori S, Glantzounis G, Guller B, Davidson BR. Systematic review of randomized controlled trials of pharmacological interventions to reduce ischaemia-reperfusion injury in elective liver resection with vascular occlusion. *HBP (Oxford)*. 2010 Feb;12(1):4-14.
3. Agouridakis P, Kyriakou D, Alexandrakis MG, Prekates A, Perisinakis K, Karkavitsas N, Bouros D. The predictive role of serum and bronchoalveolar lavage cytokines and adhesion molecules for acute respiratory distress syndrome development and outcome. *Respir Res*. 2002;3:25.
4. Albert RK. The role of ventilation-induced surfactant dysfunction and atelectasis in causing acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012 Apr 1;185(7):702-8.
5. Amato MB, Meade MO, Slutsky AS, Brochard L, Costa EL, Schoenfeld DA, Stewart TE, Briel M, Talmor D, Mercat A, Richard JC, Carvalho CR, Brower RG. Driving pressure and survival in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2015 Feb 19;372(8):747-55.
6. Anneck T, Chappell D, Chen C, Jacob M, Welsch U, Sommerhoff CP, Rehm M, Conzen PF, Becker BF. Sevoflurane preserves the endothelial glycocalyx against ischaemia-reperfusion injury. *Br J Anaesth* 2010; 104: 414–21.
7. Anneck T, Fischer J, Hartmann H, Tschoep J, Rehm M, Conzen P, Sommerhoff CP, Becker BF. Shedding of the coronary endothelial glycocalyx: effects of hypoxia/reoxygenation vs ischaemia/reperfusion. *Br J Anaesth* 2011; 107: 679–86.
8. Ansley DM, Lee J, Godin DV, Garnett ME, Qayumi AK. Propofol enhances red cell antioxidant capacity in swine and humans. *Can J Anaesth*. 1998 Mar;45(3):233-9.
9. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet*. 1967;2(7511):319-23.
10. Atwell DM, Grichnik KP, Newman MF, Reves JG, McBride WT. Balance of proinflammatory and antiinflammatory cytokines at thoracic cancer operation. *Ann Thorac Surg*. 1998 Oct;66(4):1145-50.
11. Avignon PD, Hendenstrom G, Hedman C. Pulmonary complications in respirator patients. *Acta Med Scand Suppl*. 1956;316:86-90.
12. Baudouin S.V., 2003. Lung injury after thoracotomy. *Br J Anaesth*, Jul, vol. 91, pp.132-142.
13. Beck-Schimmer B, Breitenstein S, Urech S, De Conno E, Wittlinger M, Puhon M, Jochum W, Spahn DR, Graf R, Clavien PA. A randomized controlled trial on pharmacological preconditioning in liver surgery using a volatile anesthetic. *Ann Surg*. 2008 Dec;248(6):909-18.
14. Beck-Schimmer B, Breitenstein S, Bonvini JM, Lesuertel M, Ganter M, Weber A, Puhon MA, Clavien PA. Protection of pharmacological postconditioning in liver surgery: results of a prospective randomized controlled trial. *Ann Surg*. 2012 Nov;256(5):837-44.
15. Bedirli N, Ofluoglu E, Kerem M, Utebey G, Alper M, Yilmazer D, Bedirli A, Ozlu O, Pasaoglu H. Hepatic energy metabolism and the differential protective effects of sevoflurane and isoflurane anesthesia in a rat hepatic ischemia-reperfusion injury model. *Anesth Analg*. 2008 Mar;106(3):830-7, table of contents.
16. Behne M, Wilke HJ, Harder S. Clinical pharmacokinetics of sevoflurane. *Clin Pharmacokinet*. 1999 Jan;36(1):13-26.
17. Benumof JL. Mechanism of decreased blood flow to atelectatic lung. *J Appl Physiol*. 1979 Jun;46(6):1047-8.
18. Benumof JL, Pirlo AF, Johanson I, Trousdale FR. Interaction of PVO<sub>2</sub> with PAO<sub>2</sub> on hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J Appl Physiol*. 1981 Oct;51(4):871-4.
19. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, Lamy M, Legall JR, Morris A, Spragg R. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994 Mar;149(3 Pt 1):818-24. Review.
20. Bernfield M, Götte M, Park PW, Reizes O, Fitzgerald ML, Lincecum J, Zako M. Functions of cell surface heparan sulfate proteoglycans. *Annu Rev Biochem*. 1999;68:729-77. Review.
21. Bilek AM, Dee KC, Gaver DP 3rd. Mechanisms of surface-tension-induced epithelial cell damage in a model of pulmonary airway reopening. *J Appl Physiol*. 2003 Feb;94(2):770-83.
22. Bito H, Ikeda K. Renal and hepatic function in surgical patients after low-flow sevoflurane or isoflurane anesthesia. *Anesth Analg*. 1996;82(1):173–6.
23. Blank RS, Colquhoun DA, Durieux ME, Kozower BD, McMurry TL, Bender SP, Naik BI. Management of One-lung Ventilation: Impact of Tidal Volume on Complications after Thoracic Surgery. *Anesthesiology*. 2016. Jun;124(6):1286-95.
24. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med*. 1991 Sep 15;115(6):457-69. Review.
25. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976 May 7;72:248-54.
26. Brenner D, Mak TW. Mitochondrial cell death effectors. *Curr Opin Cell Biol*, 2009. 21(6), 871–7.

27. Brodsky JB, Fitzmaurice B. Modern anesthetic techniques for thoracic operations. *World J Surg* 2001;25:162–6.
28. Brun-Buisson C, Minelli C, Bertolini G, Brazzi L, Pimentel J, Lewandowski K, Bion J, Romand JA, Villar J, Thorsteinsson A, Damas P, Armaganidis A, Lemaire F; ALIVE Study Group.. Epidemiology and outcome of acute lung injury in European intensive care units. Results from the ALIVE study. *Intensive Care Med*. 2004 Jan;30(1):51-61.
29. Brüne B. Nitric oxide: NO apoptosis or turning it ON? *Cell Death Differ*. 2003 Aug;10(8):864-9. Review.
30. Cabrera-Benítez NE, Parotto M, Post M, Han B, Spieth PM, Cheng WE, Valladares F, Villar J, Liu M, Sato M, Zhang H, Slutsky AS. Mechanical stress induces lung fibrosis by epithelial-mesenchymal transition. *Crit Care Med*. 2012 Feb;40(2):510-7.
31. Calfee CS, Eisner MD, Parsons PE, Thompson BT, Conner ER Jr, Matthay MA, Ware LB; NHLBI Acute Respiratory Distress Syndrome Clinical Trials Network. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and clinical outcomes in patients with acute lung injury. *Intensive Care Med*. 2009 Feb;35(2):248-57.
32. Canonico AE, Brigham, KL. Biology of Acute Injury. In: Crystal RG WJB, Barnes PJ, Weibel ER., editor. *The Lung: Scientific Foundations*. Philadelphia: Lippincot-Raven; 1997.
33. Casanova J., Garutti I, Simon C., Giraldez A, Martin B., González G., Azcarate L, Garcia C and Vara E. The effects of anesthetic preconditioning with sevoflurane in an experimental lung autotransplant model in pigs. *Anesth Analg*, 2011 Oct, vol. 113, pp. 742-748.
34. Casanova J, Simon C, Vara E, Sanchez G, Rancan L, Abubakra S, Calvo A, Gonzalez FJ, Garutti I. Sevoflurane anesthetic preconditioning protects the lung endothelial glycocalyx from ischemia reperfusion injury in an experimental lung autotransplant model. *J Anesth*. 2016 Oct;30(5):755-62.
35. Cavalca V, Colli S, Veglia F, Eligini S, Zingaro L, Squellerio I, Rondello N, Cighetti G, Tremoli E, Sisillo E. Anesthetic propofol enhances plasma gamma-tocopherol levels in patients undergoing cardiac surgery. *Anesthesiology*. 2008 Jun;108(6):988-97.
36. Chang HY, Yang X. Proteases for cell suicide: functions and regulation of caspases. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2000 Dec;64(4):821-46. Review.
37. Chappell D, Bruegger D, Potzel J, Jacob M, Vogeser M, Conzen P, Becker BF, Rehm M. Hypervolemia increases release of atrial natriuretic peptide and shedding of the endothelial glycocalyx. *Crit Care* 2014; 18:538.
38. Chappell D, Darfler N, Jacob M, Rehm M, Welsch U, Conzen P, Becker BF. Glycocalyx protection reduces leukocyte adhesion after ischemia/reperfusion. *Shock* 2010;34:133–9.
39. Chappell D, Heindl B, JacobM, Annecke T, Chen C, Rehm M, Conzen P, Becker BF. Sevoflurane reduces leukocyte and platelet adhesion after ischemia-reperfusion by protecting the endothelial glycocalyx. *Anesthesiology* 2011; 115: 483–91.
40. Chappell D, Hofmann-Kiefer K, Jacob M, Rehm M, Briegel J, Welsch U, Conzen P, Becker BF. TNF-alpha induced shedding of the endothelial glycocalyx is prevented by hydrocortisone and antithrombin. *Basic Res Cardiol* 2009;104:78–89.
41. Chappell D, Jacob M, Hofmann-Kiefer K, Bruegger D, Rehm M, Conzen P, Welsch U, Becker BF. Hydrocortisone preserves the vascular barrier by protecting the endothelial glycocalyx. *Anesthesiology* 2007;107:776–84
42. Cho EJ, Yoon JH, Hong SJ, Lee SH, Sim SB. The effects of sevoflurane on systemic and pulmonary inflammatory responses after cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2009 Oct;23(5):639-45.
43. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical biochemistry*. 1987;162(1):156-9.
44. Clemetson KJ, Clemetson JM, Proudfoot AE, Power CA, Baggiolini M, Wells TN. Functional expression of CCR1, CCR3, CCR4, and CXCR4 chemokine receptors on human platelets. *Blood*. 2000 Dec 15;96(13):4046-54.
45. Cohen E. Management of one-lung ventilation. *Anesthesiol Clin North America* 2001;19:475–95.
46. Collins SR, Blank RS, Deatherage LS, Dull RO. Special article: the endothelial glycocalyx: emerging concepts in pulmonary edema and acute lung injury. *Anesth Analg* 2013;117:664–74.
47. Cree RT, Warnell I, Staunton M, Shaw I, Bullock R, Griffin SM, Baudouin SV. Alveolar and plasma concentrations of interleukin-8 and vascular endothelial growth factor following oesophagectomy. *Anaesthesia*. 2004 Sep;59(9):867-71.
48. Cross LJ, Matthay MA. Biomarkers in acute lung injury: insights into the pathogenesis of acute lung injury. *Critical care clinics*. 2011;27(2):355-77.
49. Crozier TA, Müller JE, Quittkat D, Sydow M, Wuttke W, Kettler D. Effect of anaesthesia on the cytokine responses to abdominal surgery. *Br J Anaesth*. 1994 Mar;72(3):280-5.



50. Cummins EP, Berra E, Comerford KM, Ginouves A, Fitzgerald KT, Seeballuck F, Godson C, Nielsen JE, Moynagh P, Pouyssegur J, Taylor CT. Prolyl hydroxylase-1 negatively regulates I $\kappa$ B kinase-beta, giving insight into hypoxia-induced NF $\kappa$ B activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Nov 28;103(48):18154-9.
51. Curry FR. Atrial natriuretic peptide: an Essentials physiological regulator of transvascular fluid, protein transport, and plasma volume. *J Clin Invest* 2005; 115: 1458–61.
52. De Conno E, Steurer MP, Wittlinger M, Zalunardo MP, Weder W, Schneiter D, Schimmer RC, Klaghofer R, Neff TA, Schmid ER, Spahn DR, Z'graggen BR, Urner M, Beck-Schimmer B. Anesthetic-induced improvement of the inflammatory response to one-lung ventilation. *Anesthesiology*. 2009 Jun;110(6):1316-26.
53. De La Cruz JP, Paez MV, Carmona JA, De La Cuesta FS. Antiplatelet effect of the anaesthetic drug propofol: influence of red blood cells and leucocytes. *Br J Pharmacol* 1999; 128:1538–44.
54. Delogu G, Famularo G, Luzzi S, Rubcich P, Giardina A, Masciangelo R, Antonucci A, Signore L. General anesthesia mode does not influence endocrine or immunologic profile after open or laparoscopic cholecystectomy. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 1999 Oct;9(5):326-32.
55. Dermizaki E, Staikou C, Petropoulos G, Rizos D, Siafaka I, Fassoulaki A. A randomized study of maternal serum cytokine levels following cesarean section under general or neuraxial anesthesia. *Int J Obstet Anesth*. 2009 Jan;18(1):33-7.
56. Determann RM, Royakkers A, Wolthuis EK, Vlaar AP, Choi G, Paulus F, Hofstra JJ, de Graaff MJ, Korevaar JC, Schultz MJ. Ventilation with lower tidal volumes as compared with conventional tidal volumes for patients without acute lung injury: a preventive randomized controlled trial. *Crit Care*. 2010;14(1):R1.
57. Donati A, Damiani E, Luchetti M, Domizi R, Scorcella C, Carsetti A, Gabbanelli V, Carletti P, Bencivenga R, Vink H, Adrario E, Piagnerelli M, Gabrielli A, Pelaia P, Ince C. Microcirculatory effects of the transfusion of leukodepleted or non-leukodepleted red blood cells in patients with sepsis: a pilot study. *Crit Care*. 2014 Feb 17;18(1):R33.
58. Dos Santos CC, Slutsky AS. Invited review: mechanisms of ventilator induced lung injury: a perspective. *J Appl Physiol* 2000;89(4):1645-55.
59. Downey GP, Dong Q, Kruger J, Dedhar S, Cherapanov V. Regulation of neutrophil activation in acute lung injury. *Chest*. 1999;116(1 Suppl):46S-54S. Review.
60. Dreyfuss D, Soler P, Basset G, Saumon G. High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. *Am Rev Respir Dis*. 1988 May;137(5):1159-64.
61. Dull RO, Cluff M, Kingston J, Hill D, Chen H, Hoehne S, Malleske DT, Kaur R. Lung heparan sulfates modulate K(fc) during increased vascular pressure: evidence for glycocalyx mediated mechanotransduction. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2012;302:L816–28.
62. Dulu A, Pastores SM, Park B, Riedel E, Rusch V, Halpern NA. Prevalence and mortality of acute lung injury and ARDS after lung resection. *Chest*. 2006 Jul;130(1):73-8.
63. Eichenbaum KD, Neustein SM. Acute lung injury after thoracic surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2010; 24:681–690.
64. Eisner MD, Thompson T, Hudson LD, Luce JM, Hayden D, Schoenfeld D, Matthay MA; Acute Respiratory Distress Syndrome Network.. Efficacy of low tidal volumen ventilation in patients with different clinical risk factors for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Jul 15;164(2):231-6.
65. Egdahl RH. Pituitary-adrenal response following trauma to the isolated leg. *Surgery*. 1959 Jul;46(1):9-21.
66. El Azab SR, Rosseel PM, De Lange JJ, van Wijk EM, van Strik R, Scheffer GJ. Effect of VIMA with sevoflurane versus TIVA with propofol or midazolam-sufentanil on the cytokine response during CABG surgery. *Eur J Anaesthesiol*. 2002 Apr;19(4):276-82.
67. Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The sympathetic nerve—an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol Rev*. 2000 Dec;52(4):595-638. Review.
68. Erickson SE, Shlipak MG, Martin GS, Wheeler AP, Ancukiewicz M, Matthay MA, Eisner MD; National Institutes of Health National Heart, Lung, and Blood Institute Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Racial and ethnic disparities in mortality from acute lung injury. *Crit Care Med*. 2009 Jan;37(1):1-6.
69. Fernández PL, Farré X, Nadal A, Fernández E, Peiró N, Sloane BF, Shi GP, Chapman HA, Campo E, Cardesa A. Expression of cathepsins B and S in the progression of préstate carcinoma. *Int J Cancer* 2001;95:51–5.
70. Ferrando C, Aguilar G, Piqueras L, Soro M, Moreno J, Belda FJ. Sevoflurane, but not propofol, reduces the lung inflammatory response and improves oxygenation in an acute respiratory distress syndrome model: a randomised laboratory study. *Eur J Anaesthesiol*. 2013 Aug;30(8):455-63.

71. Fisher JL, Levitan I, Margulies SS. Plasma membrane surface increases with tonic stretch of alveolar epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2004 Aug;31(2):200–8.
72. Flierl MA, Rittirsch D, Nadeau BA, Sarma JV, Day DE, Lentsch AB, Huber-Lang MS, Ward PA. Upregulation of phagocyte-derived catecholamines augments the acute inflammatory response. *PLoS One*. 2009;4(2):e4414.
73. Flori HR, Ware LB, Milet M, Matthay MA. Early elevation of plasma von Willebrand factor antigen in pediatric acute lung injury is associated with an increased risk of death and prolonged mechanical ventilation. *Pediatric critical care medicine: a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies*. 2007;8(2):96-101.
74. Fothergill J. Observations of a case Published in the last volumen of the medical in the last volume of the medical essays of recovering a man dead in appearance by distending the lungs with air. *Philosophical Transactions*. 1744;43:275-81.
75. Frank JA, Parsons PE, Matthay MA. Pathogenetic significance of biological markers of ventilator-associated lung injury in experimental and clinical studies. *Chest*. 2006;130(6):1906-14.
76. Frank JA, Wray CM, McAuley DF, Schwendener R, Matthay MA. Alveolar macrophages contribute to alveolar barrier dysfunction in ventilator-induced lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006;291(6):L1191-8.
77. Frlan R, Gobec S. Inhibitors of cathepsin B. *Curr MedChem* 2006;13:2309-27.
78. Friedrichs B, Tepel C, Reinheckel T, Deussing J, von Figura K, Herzog V, Peters C, Saftig P, Brix K. Thyroid functions of mouse cathepsins B, K, and L. *J Clin Invest*. 2003 Jun;111(11):1733-45.
79. Frink EJ Jr. The hepatic effects of sevoflurane. *Anesth Analg*. 1995;81(6 Suppl):S46–50.
80. Fröhlich D, Rothe G, Schwall B, Schmid P, Schmitz G, Taeger K, Hobbhahn J. Effects of volatile anaesthetics on human neutrophil oxidative response to the bacterial peptide FMLP. *Br J Anaesth*. 1997 Jun;78(6):718-23.
81. Funakoshi T, Ishibe Y, Okazaki N, Miura K, Liu R, Nagai S, Minami Y. Effect of re-expansion after short-period lung collapse on pulmonary capillary permeability and pro-inflammatory cytokine gene expression in isolated rabbit lungs. *Br J Anaesth*. 2004 Apr;92(4):558-63.
82. Geiger B, Bershadsky A. Exploring the Neighborhood. *Cell*. 2002 Jul 26;110(2):139–42.
83. Gilliland HE, Armstrong MA, Carabine U, McMurray TJ. The choice of anaesthetic maintenance technique influences the anti-inflammatory cytokine response to abdominal surgery. *Anesthesia and Analgesia* 1997; 85: 1394-8.
84. Gilsanz F, Celemin R, Blanc G, Orts MM. [Sevoflurane]. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*. 1996 Aug-Sep;43(7):243-8.
85. Ginzberg HH, Cherapanov V, Dong Q, Cantin A, McCulloch CA, Shannon PT, Downey GP. Neutrophil-mediated epithelial injury during transmigration: role of elastase. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2001 Sep;281(3):G705-17.
86. Ginzberg HH, Shannon PT, Suzuki T, Hong O, Vachon E, Moraes T, Abreu MT, Cherepanov V, Wang X, Chow CW, Downey GP. Leukocyte elastase induces epithelialapoptosis: role of mitochondrial permeability changes and Akt. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004 Jul;287(1):G286-98.
87. Giraud O, Molliex S, Rolland C, Leçon-Malas V, Desmonts JM, Aubier M, Dehoux M. Halogenated anesthetics reduce interleukin-1beta-induced cytokine secretion by rat alveolar type II cells in primary culture. *Anesthesiology*. 2003 Jan;98(1):74-81.
88. Gole B, Duran Alonso MB, Dolenc V, Lah T. Post-translational regulation of cathepsin B, but not of other cysteine cathepsins, contributes to increased glioblastoma cell invasiveness in vitro. *Pathol Oncol Res* 2009;15:711–23.
89. González-Correa JA, Cruz-Andreotti E, Arrebola MM, López-Villodres JA, Jódar M, De La Cruz JP. Effects of propofol on the leukocyte nitric oxide pathway: in vitro and ex vivo studies in surgical patients. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2008 Jan;376(5):331-9.
90. Goode HF, Cowley HC, Walker BE, Howdle PD, Webster NR. Decreased antioxidante status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction. *Crit Care Med*. 1995 Apr;23(4):646-51.
91. Goodman RB, Strieter RM, Martin DP, Steinberg KP, Milberg JA, Maunder RJ, Kunkel SL, Walz A, Hudson LD, Martin TR. Inflammatory cytokines in patients with persistence of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996 Sep;154(3 Pt 1):602-11.
92. Goss CH, Brower RG, Hudson LD, Rubenfeld GD. Incidence of acute lung injury in the United States. *Crit Care Med*. 2003;31(6):1607-11.
93. Gothard J. Lung injury after thoracic surgery and onelung ventilation. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2006;19:5-10
94. Götte M. Syndecans in inflammation. *FASEB J*. 2003 Apr;17(6):575-91. Review.

95. Götte M, Joussen AM, Klein C, Andre P, Wagner DD, Hinkes MT, Kirchhof B, Adamis AP, Bernfield M. Role of syndecan-1 in leukocyte-endothelial interactions in the ocular vasculature. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002 Apr;43(4):1135-41.
96. Green DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis. *Science.* 1998 Aug 28;281(5381):1309-12. Review.
97. Grichnik KP, Clark JA. Pathophysiology and management of one-lung ventilation. *Thorac Surg Clin* 2005;15:85–103.
98. Grichnik KP, D'Amico TA. Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome after pulmonary resection. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth.* 2004 Dec;8(4):317-34. Review.
99. Gross A, Pilcher K, Blachly-Dyson E, Basso E, Jockel J, Bassik MC, Korsmeyer SJ, Forte M. Biochemical and genetic analysis of the mitochondrial response of yeast to BAX and BCL-X(L). *Mol Cell Biol.* 2000 May;20(9):3125-36.
100. Hadade A, Ionescu D, Mocan T, Necula A, Cristea V. Total Intravenous Versus Inhalation Anesthesia in Patients Undergoing Laparoscopic Cholecystectomies. Effects on Two Proinflammatory Cytokines Serum Levels: IL-32 and TNF- $\alpha$ . *The Journal of Critical Care Medicine.* 2016;2(1)44-50.
101. Haitisma JJ, Uhlig S, Goggel R, Verbrugge SJ, Lachmann U, Lachmann B. Ventilator-induced lung injury leads to loss of alveolar and systemic compartmentalization of tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Intensive Care Med.* 2000;26(10):1515-22.
102. Hammouda S, Abd Rabbih A, AlGanady A. Immunomodulatory effect of propofol versus sevoflurane in patients undergoing thoracic surgery using one lung ventilation technique. *Egypt J Chest Dis Tuberc* 2013; 62:731-43.
103. Hayden MS, Ghosh S. NF- $\kappa$ B, the first quarter-century: remarkable progress and outstanding questions. *Genes Dev.* 2012 Feb 1;26(3):203-34.
104. Hegeman MA, Hennis MP, Heijnen CJ, Specht PA, Lachmann B, Jansen NJ, van Vught AJ, Cobelens PM. Ventilator-induced endothelial activation and inflammation in the lung and distal organs. *Crit Care.* 2009;13(6).
105. Held HD, Boettcher S, Hamann L, Uhlig S. Ventilation-induced chemokine and cytokine release is associated with activation of nuclear factor- $\kappa$ B and is blocked by steroids. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163(3 Pt 1):711-6.
106. Herridge MS, Cheung AM, Tansey CM, Matte-Martyn A, Diaz-Granados N, Al-Saidi F, Cooper AB, Guest CB, Mazer CD, Mehta S, Stewart TE, Barr A, Cook D, Slutsky AS; Canadian Critical Care Trials Group.. One-year outcomes in survivors of the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2003 Feb 20;348(8):683-93.
107. Hoegl S, Boost KA, Flondor M, Scheiermann P, Muhl H, Pfeilschifter J, Zwissler B, Hofstetter C. Short-term exposure to high-pressure ventilation leads to pulmonary biotrauma and systemic inflammation in the rat. *Int J Mol Med.* 2008 Apr;21(4):513-9.
108. Ihtiyar E, Algin C, Haciolu A, Isiksoy S. Fatal isoflurane hepatotoxicity without re-exposure. *Indian J Gastroenterol.* 2006;25(1):41–2.
109. Imai Y, Parodo J, Kajikawa O, de Perrot M, Fischer S, Edwards V, Cutz E, Liu M, Keshavjee S, Martin TR, Marshall JC, Ranieri VM, Slutsky AS. Injurious mechanical ventilation and end-organ epithelial cell apoptosis and organ dysfunction in an experimental model of acute respiratory distress syndrome. *JAMA.* 2003 Apr 23-30;289(16):2104-12.
110. Ionescu DC, Margarit SC, Hadade AN, Mocan TN, Miron NA, Sessler DI. Choice of anesthetic technique on plasma concentrations of interleukins and cell adhesion molecules. *Perioper Med (Lond).* 2013 May 2;2(1):8.
111. Ishibe Y, Gui X, Uno H, Shiokawa Y, Umeda T, Suekane K. Effect of sevoflurane on hypoxic pulmonary vasoconstriction in the perfused rabbit lung. *Anesthesiology.* 1993 Dec;79(6):1348-53.
112. Ishikawa S, Shirasawa M, Fujisawa M, Kawano T, Makita K. Compressing the non-dependent lung during one-lung ventilation improves arterial oxygenation, but impairs systemic oxygen delivery by decreasing cardiac output. *J Anesth* 2010;24:17–23.
113. Jakobsen CJ, Berg H, Hindsholm KB, Faddy N, Sloth E. The influence of propofol versus sevoflurane anesthesia on outcome in 10 535 cardiac surgical procedures. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2007;21:664-71.
114. Jameson P, Desborough JP, Bryant AE, Hall GM. The effect of cortisol suppression on interleukin-6 and white blood cell responses to surgery. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1997 Feb;41(2):304-8.
115. Jensen KS, Micco AJ, Czartolomna J, Latham L, Voelkel NF. Rapid onset of hypoxic vasoconstriction in isolated lungs. *J Appl Physiol.* 1992 May;72(5):2018-23.
116. Jin Y, Zhao X, Li H, Wang Z, Wang D. Effects of sevoflurane and propofol on the inflammatory response and pulmonary function of perioperative patients with one-lung ventilation. *Exp Ther Med.* 2013

- Sep;6(3):781-785.
117. Johnson ER, Matthay MA. Acute lung injury: epidemiology, pathogenesis, and treatment. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2010;23(4):243-52.
  118. Johnson ME, Sill JC, Uhl CB, Halsey TJ, Gores GJ. Effect of volatile anesthetics on hydrogen peroxide-induced injury in aortic and pulmonary arterial endothelial cells. *Anesthesiology.* 1996 Jan;84(1):103-16.
  119. Jones SA. Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6. *J Immunol.* 2005;175(6):3463-8.
  120. Jordan S, Mitchell JA, Quinlan GJ, Goldstraw P, Evans TW. The pathogenesis of lung injury following pulmonary resection. *Eur Respir J.* 2000 Apr;15(4):790-9. Review.
  121. Kahraman S, Demiryurek AT. Propofol is a peroxynitrite scavenger. *Anesth Analg* 1997; 84:1127-9.
  122. Kalimeris K, Christodoulaki K, Karakitsos P, Batistatou A, Lekka M, Bai M, Kitsioulis E, Nakos G, Kostopanagiotou G. Influence of propofol and volatile anaesthetics on the inflammatory response in the ventilated lung. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2011 Jul;55(6):740-8.
  123. Kawano T, Mori S, Cybulsky M, Burger R, Ballin A, Cutz E, Bryan AC. Effect of granulocyte depletion in a ventilated surfactant-depleted lung. *J Appl Physiol*(1985). 1987 Jan;62(1):27-33.
  124. Kerbaul F, Bellezza M, Guidon C, Roussel L, Imbert M, Carpentier JP, Auffray JP. Effects of sevoflurane on hypoxic pulmonary vasoconstriction in anaesthetized piglets. *Br J Anaesth.* 2000 Sep;85(3):440-5.
  125. Kharasch ED, Karol MD, Lanni C, Sawchuk R. Clinical sevoflurane metabolism and disposition. I. Sevoflurane and metabolite pharmacokinetics. *Anesthesiology.* 1995 Jun;82(6):1369-78.
  126. Kilpatrick B, Slinger P. Lung protective strategies in anesthesia. *Br J Anesth* 2010; 105:108–116.
  127. Klingstedt C, Hedenstierna G, Baehrendtz S, Lundqvist H, Strandberg A, Tokics L, Brismar B. Ventilation-perfusion relationships and atelectasis formation in the supine and lateral positions during conventional mechanical and differential ventilation. *Acta Anaesthesiol Scand* 1990;34:421–9.
  128. Kodaira Y, Nair SK, Wrenshall LE, Gilboa E, Platt JL. Phenotypic and functional maturation of dendritic cells mediated by heparan sulfate. *J Immunol.* 2000 Aug 1;165(3):1599-604.
  129. Kozian A, Schilling T, Fredn F, Maripuu E, Ricken C, Strang C, Hachenberg T, Hedenstierna G. One-lung ventilation induces hyperperfusion and alveolar damage in the ventilated lung: an experimental study. *Br J Anaesth* 2008;100:549–59.
  130. Kumakura S, Yamaguchi K, Sugawara Y, Murakami T, Kikuchi T, Inada E, Nagaoka I. Effects of nitrous oxide on the production of cytokines and chemokines by the airway epithelium during anesthesia with sevoflurane and propofol. *Mol Med Rep.* 2013 Dec;8(6):1643-8
  131. Kvarnström AL, Sarbinowski RT, Bengtson JP, Jacobsson LM, Bengtsson AL. Complement activation and interleukin response in major abdominal surgery. *Scand J Immunol.* 2012 May;75(5):510-6.
  132. Kwon OJ, Au BT, Collins PD, Adcock IM, Mak JC, Robbins RR, Chung KF, Barnes PJ. Tumor necrosis factor-induced interleukin-8 expression in cultured human airway epithelial cells. *Am J Physiol.* 1994 Oct;267(4 Pt 1):L398-405.
  133. Lassen HC. A preliminary report on the 1952 epidemic of poliomyelitis in Copenhagen with special reference to the treatment of acute respiratory insufficiency. *Lancet.* 1953 Jan 3;1(6749):37-41.
  134. Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009 Dec;1(6):a001651.
  135. Lee WL, Downey GP. Neutrophil activation and acute lung injury. *Curr Opin Crit Care.* 2001 Feb;7(1):1-7.
  136. Lee HT, Kim M, Jan M, Emala CW. Antiinflammatory and antinecrotic effects of the volatile anesthetic sevoflurane in kidney proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291:F67-78.
  137. Lefering R, Goris RJ, van Nieuwenhoven EJ, Neugebauer E. Revision of the multiple organ failure score. *Langenbecks Arch Surg.* 2002 Apr;387(1):14-20.
  138. Li LF, Liao SK, Ko YS, Lee CH, Quinn DA. Hyperoxia increases ventilator-induced lung injury via mitogen-activated protein kinases: a prospective, controlled animal experiment. *Crit Care.* 2007;11(1):R25.
  139. Li LF, Yu L, Quinn DA. Ventilation-induced neutrophil infiltration depends on c-Jun N-terminal kinase. *Am J Resp Crit Care Med* 2004;169:518–524.
  140. Licker M, Fauconnet P, Villiger Y, Tschopp JM. Acute lung injury and outcomes after thoracic surgery. *Curr Opin Anaesthesiol* 2009; 22:61–67.
  141. Licker M, de Perrot M, Spiliopoulos A, Robert J, Diaper J, Chevalley C, Tschopp JM. Risk factors for acute lung injury after thoracic surgery for lung cancer. *Anesth Analg.* 2003 Dec;97(6):1558-65.
  142. Lin HF, Zhu ZR, Hu ZY. Protective effects of sevoflurane preconditioning on cerebral ischemia reperfusion injury in rats. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2009; 89:2943-5.
  143. Lindholm EE, Aune E, Seljeflot I, Otterstad JE, Kirkeboen KA. Biomarkers of inflammation in major vascular surgery: a prospective randomised trial. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2015 Jul;59(6):773-87
  144. Lisowska B, Szymanska M, Nowacka E, Olszewska M. Anesthesiology and the cytokine network. *Postepy*

- Hig Med Dosw(Online). 2013 Aug;67:761-9.
145. Liu KD, Glidden DV, Eisner MD, Parsons PE, Ware LB, Wheeler A, Korpak A, Thompson BT, Chertow GM, Matthay MA; National Heart, Lung, and Blood Institute ARDS Network Clinical Trials Group. Predictive and pathogenetic value of plasma biomarkers for acute kidney injury in patients with acute lung injury. *Crit Care Med*. 2007 Dec;35(12):2755-61.
  146. Liuzzo JP, Petanceska SS, Moscatelli D, Devi LA. Inflammatory mediators regulate cathepsin S in macrophages and microglia: a role in attenuating heparin sulfate interactions. *Mol Med* 1999;5:320-33.
  147. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001;25(4):402-8.
  148. Lockshin RA, Zakeri Z. Caspase-independent cell death? *Oncogene*. 2004;23(16):2766-73.
  149. Lucchinetti E, Aguirre J, Feng J, Zhu M, Suter M, Spahn DR, Härter L, Zaugg M. Molecular evidence of late preconditioning after sevoflurane inhalation in healthy volunteers. *Anesth Analg*. 2007 Sep;105(3):629-40.
  150. Markovic N, McCaig LA, Stephen J, Mizuguchi S, Veldhuizen RA, Lewis JF, Cepinskas G. Mediators released from LPS-challenged lungs induce inflammatory responses in liver vascular endothelial cells and neutrophilic leukocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2009 Dec;297(6):G1066-76.
  151. Markovic-Bozic J, Karpe B, Potocnik I, Jerin A, Vranic A, Novak-Jankovic V. Effect of propofol and sevoflurane on the inflammatory response of patients undergoing craniotomy. *BMC Anesthesiol*. 2016 Mar 22;16:18.
  152. Margarit SC, Vasian HN, Balla E, Vesa S, Ionescu DC. The influence of total intravenous anaesthesia and isoflurane anaesthesia on plasma interleukin-6 and interleukin-10 concentrations after colorectal surgery for cancer: a randomised controlled trial. *Eur J Anaesthesiol*. 2014 Dec;31(12):678-84.
  153. Martin TR, Pistorese BP, Chi EY, Goodman RB, Matthay MA. Effects of leukotriene B4 in the human lung. Recruitment of neutrophils into the alveolar spaces without a change in protein permeability. *J Clin Invest*. 1989;84(5):1609-19.
  154. Matute-Bello G, Frevert CW, Liles WC, Nakamura M, Ruzinski JT, Ballman K, Wong VA, Vathanaprida C, Martin TR. Fas/Fas ligand system mediates epithelial injury, but not pulmonary host defenses, in response to inhaled bacteria. *Infect Immun*. 2001 Sep;69(9):5768-76.
  155. McHugh LG, Milberg JA, Whitcomb ME, Schoene RB, Maunder RJ, Hudson LD. Recovery of function in survivors of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;150(1):90-4.
  156. Meduri GU, Headley S, Kohler G, Stentz F, Tolley E, Umberger R, Leeper K. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1 beta and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time. *Chest*. 1995 Apr;107(4):1062-73.
  157. Meduri GU, Kohler G, Headley S, Tolley E, Stentz F, Postlethwaite A. Inflammatory cytokines in the BAL of patients with ARDS. Persistent elevation over time predicts poor outcome. *Chest*. 1995;108(5):1303-14.
  158. Michelet P, D'Journo XB, Roch A, Doddoli C, Marin V, Papazian L, Decamps I, Bregeon F, Thomas P, Auffray JP. Protective ventilation influences systemic inflammation after esophagectomy: a randomized controlled study. *Anesthesiology*. 2006 Nov;105(5):911-9.
  159. Milberg JA, Davis DR, Steinberg KP, Hudson LD. Improved survival of patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): 1983-1993. *JAMA*. 1995;273(4):306-9.
  160. Mitchell P Fink. Chapter 4 - The Inflammatory Response. *Sabiston Textbook of Surgery*. 19th Ed. Philadelphia. Elsevier . 2012. p 40-65.
  161. Misthos P, Katsaragakis S, Theodorou D, Milingos N, Skottis I. The degree of oxidative stress is associated with major adverse effects after lung resection: A prospective study. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006;29:591-5.
  162. Mitsuhashi H, Shimizu R, Yokoyama MM. Suppressive effects of volatile anesthetics on cytokine release in human peripheral blood mononuclear cells. *Int J Immunopharmacol*. 1995 Jun;17(6):529-34.
  163. Möbert J, Zahler S, Becker BF, Conzen PF. Inhibition of neutrophil activation by volatile anesthetics decreases adhesion to cultured human endothelial cells. *Anesthesiology*. 1999 May;90(5):1372-81.
  164. Mohseni M, Safari S, Alavian SM. Volatile anesthetics in ischemic liver injury: enemy or friend? *Hepat Mon*. 2014;14(6).
  165. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001;19 683-765.
  166. Murphy DB, Cregg N, Tremblay L, Engelberts D, Laffey JG, Slutsky AS, Romaschin A, Kavanagh BP. Adverse ventilatory strategy causes pulmonary-to-systemic translocation of endotoxin. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Jul;162(1):27-33. Erratum in: *Am J Respir Crit Care Med* 2002 Dec 1;166(11):1517
  167. Murphy PG, Myers DS, Davies MJ, Webster NR, Jones JG. The antioxidant potential of propofol (2,6-diisopropylphenol). *Br J Anaesth*. 1992 Jun;68(6):613-8.
  168. Murray JF, Matthay MA, Luce JM, Flick MR. An expanded definition of the adult respiratory distress

- syndrome. *Am Rev Respir Dis*. 1988;138(3):720-3.
169. Naik AS, Kallapur SG, Bachurski CJ, Jobe AH, Michna J, Kramer BW, Ikegami M. Effects of ventilation with different positive end-expiratory pressures on cytokine expression in the preterm lamb lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Aug 1;164(3):494-8.
170. Nash G, Blennerhassett JB, Pontoppidan H. Pulmonary lesions associated with oxygen therapy and artificial ventilation. *N Engl J Med*. 1967 Feb 16;276(7):368-74.
171. Nahum A, Hoyt J, Schmitz L, Moody J, Shapiro R, Marini JJ. Effect of mechanical ventilation strategy on dissemination of intratracheally instilled *Escherichia coli* in dogs. *Crit Care Med*. 1997 Oct;25(10):1733-43.
172. Nakamura M, Fujishima S, Sawafuji M, Ishizaka A, Oguma T, Soejima K. Importance of IL 8 in the development of reexpansion lung injury in rabbits. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:1030-6.
173. Nakanuno R, Yasuda T, Hamada H, Yoshikawa H, Nakamura R, Saeki N, Kawamoto M. Propofol for Anesthesia and Postoperative Sedation Resulted in Fewer Inflammatory Responses than Sevoflurane Anesthesia and Midazolam Sedation after Thoracoabdominal Esophagectomy. *Hiroshima J Med Sci*. 2015 Sep;64(3):31-7.
174. Neoptolemos JP, Wood P, Everson NW, Bell PRF. Monocyte function following surgery in man. Increased number and stimulation of migration, phagocytosis and chemiluminescence following abdominal surgery. *Eur Surg Res* 1985; 17:215-20.
175. Nieuwdorp M, Mooij HL, Kroon J, Atasever B, Spaan JA, Ince C, Holleman F, Diamant M, Heine RJ, Hoekstra JB, Kastelein JJ, Stroes ES, Vink H. Endothelial glycocalyx damage coincides with microalbuminuria in type 1 diabetes. *Diabetes* 2006; 55: 1127–32.
176. Ola MS, Nawaz M, Ahsan H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis. *Mol. Cell. Biochem*, 2011. 351(1-2) 41-48.
177. Orfanos SE, Mavrommati I, Korovesi I, Roussos C. Pulmonary endothelium in acute lung injury: from basic science to the critically ill. *Intensive Care Med*. 2004;30(9):1702-14.
178. Orosz JE, Braz MG, Golim MA, Barreira MA, Fecchio D, Braz LG, Braz JR. Cytokine profile in patients undergoing minimally invasive surgery with balanced anesthesia. *Inflammation*. 2012 Dec;35(6):1807-13.
179. Oudin S, Pugin J. Role of MAP kinase activation in interleukin-8 production by human BEAS-2B bronchial epithelial cells submitted to cyclic stretch. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2002 Jul;27(1):107–14.
180. Padberg JS, Wiesinger A, di Marco GS, Reuter S, Grabner A, Kentrup D, Lukasz A, Oberleithner H, Pavenstadt H, Brand M, Kumpers P. Damage of the endothelial glycocalyx in chronic kidney disease. *Atherosclerosis* 2014; 234:335–43.
181. Padley SP, Jordan SJ, Goldstraw P, Wells AU, Hansell DM. Asymmetric ARDS following pulmonary resection: CT findings initial observations. *Radiology*. 2002 May;223(2):468-73.
182. Park WY, Goodman RB, Steinberg KP, Ruzinski JT, Radella F 2nd, Park DR, Pugin J, Skerrett SJ, Hudson LD, Martin TR. Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Nov 15;164(10 Pt 1):1896-903.
183. Parrillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med* 1993, 328:1471-1477.
184. Parsons PE, Eisner MD, Thompson BT, Matthay MA, Ancukiewicz M, Bernard GR, Wheeler AP; NHLBI Acute Respiratory Distress Syndrome Clinical Trials Network. Lower tidal volume ventilation and plasma cytokine markers of inflammation in patients with acute lung injury. *Crit Care Med*. 2005 Jan;33(1):1-6; discussion 230-2.
185. Patel SS, Goa KL. Sevoflurane. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its clinical use in general anaesthesia. *Drugs*. 1996 Apr;51(4):658-700.
186. Patterson EK, Yao LJ, Ramic N, Lewis JF, Cepinskas G, McCaig L, Veldhuizen RA, Yamashita CM. Lung-derived mediators induce cytokine production in Downstream organs via an NF-kB-dependent mechanism. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:586895.
187. Petty TL, Ashbaugh DG. The adult respiratory distress syndrome. Clinical features, factors influencing prognosis and principles of management. *Chest*. 1971 Sep;60(3):233-9.
188. Phua J, Badia JR, Adhikari NK, Friedrich JO, Fowler RA, Singh JM, Scales DC, Stather DR, Li A, Jones A, Gattas DJ, Hallett D, Tomlinson G, Stewart TE, Ferguson ND. Has mortality from acute respiratory distress syndrome decreased over time?: A systematic review. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 Feb 1;179(3):220-7.
189. Pirlo AF, Benumof JL, Trousdale FR. Atelectatic lobe blood flow: open vs. closed chest, positive pressure vs. spontaneous ventilation. *J Appl Physiol*. 1981 May;50(5):1022-6.
190. Pirttikangas CO, Salo M, Mansikka M, Grönroos J, Pulkki K, Peltola O. The influence of anaesthetic technique upon the immune response to hysterectomy. A comparison of propofol infusion and isoflurane. *Anaesthesia*. 1995 Dec;50(12):1056-61.
191. Plotz FB, Slutsky AS, van Vught AJ, Heijnen CJ. Ventilator- induced lung injury and multiple system organ

- failure: a critical review of facts and hypotheses. *Intensive Care Med* 2004; 30:1865-1872.
192. Pomin VH. Sulfated glycans in inflammation. *Eur J Med Chem*. 2015 Review.
  193. Potočnik I, Novak Janković V, Šostarič M, Jerin A, Štupnik T, Skitek M, Markovič-Božič J, Klokočevnik T. Antiinflammatory effect of sevoflurane in open lung surgery with one-lung ventilation. *Croat Med J*. 2014 Dec;55(6):628-37.
  194. Pugin J. Molecular mechanisms of lung cell activation induced by cyclic stretch. *Critical Care Medicine*. 2003 Apr;31(Supplement):S200–S206.
  195. Pugin J, Dunn I, Jolliet P, Tassaux D, Magnenat JL, Nicod LP, Chevrolet JC. Activation of human macrophages by mechanical ventilation in vitro. *Am J Physiol*. 1998 Dec;275(6 Pt 1):L1040-50.
  196. Pugin J, Ricou B, Steinberg KP, Suter PM, Martin TR. Proinflammatory activity in bronchoalveolar lavage fluids from patients with ARDS, a prominent role for interleukin-1. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;153(6 Pt 1):1850-6.
  197. Pugin J, Verghese G, Widmer MC, Matthay MA. The alveolar space is the site of intense inflammatory and profibrotic reactions in the early phase of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*. 1999;27(2):304-12.
  198. Qiao Y, Feng H, Zhao T, Yan H, Zhang H, Zhao X. Postoperative cognitive dysfunction after inhalational anesthesia in elderly patients undergoing major surgery: the influence of anesthetic technique, cerebral injury and systemic inflammation. *BMC Anesthesiol*. 2015 Oct 23;15:154.
  199. Rahimzadeh P, Safari S, Faiz SH, Alavian SM. Anesthesia for patients with liver disease. *Hepat Mon*. 2014;14(7).
  200. Rancan L, Huerta L, Cusati G, Erquicia I, Isea J, Paredes SD, García C, Garutti I, Simón C, Vara E. Sevoflurane prevents liver inflammatory response induced by lung ischemia-reperfusion. *Transplantation*. 2014 Dec 15;98(11):1151-7.
  201. Rancan L, Guillermo Sánchez-Pedrosa, Karen Aymonnier, Javier Casanova, Celia Muñoz, David Rincón, Carlos Simón, Ignacio Garutti, Elena Vara. Glycocalyx degradation after pulmonary resection surgery. *Br J Anaesth* 2016 in press.
  202. Ranieri VM, Giunta F, Suter PM, Slutsky AS. Mechanical ventilation as a mediator of multisystem organ failure in acute respiratory distress syndrome. *JAMA*. 2000;284(1):43-4.
  203. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, Camporota L, Slutsky AS. ARDS Definition Task Force. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA*. 2012 Jun 20;307(23):2526-33.
  204. Ranieri VM, Suter PM, Tortorella C, De Tullio R, Dayer JM, Brienza A, Bruno F, Slutsky AS. Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1999 Jul 7;282(1):54-61.
  205. Rehm M, Bruegger D, Christ F, Conzen P, Thiel M, Jacob M, Chappell D, Stoeckelhuber M, Welsch U, Reichart B, Peter K, Becker BF. Shedding of the endothelial glycocalyx in patients undergoing major vascular surgery with global and regional ischemia. *Circulation* 2007; 116:1896–906.
  206. Reizes O, Lincecum J, Wang Z, Goldberger O, Huang L, Kaksonen M, Ahima R, Hinkes MT, Barsh GS, Rauvala H, Bernfield M. Transgenic expression of syndecan-1 uncovers a physiological control of feeding behavior by syndecan-3. *Cell*. 2001 Jul 13;106(1):105-16.
  207. Reutershan A, Chang D., Hayes JK, Ley K. Protective effects of isoflurane pretreatment in endotoxin induced lung injury. *Anesthesiology* 2006; 104:511-7.
  208. Respirator lung syndrome. *Minn Med*. 1967 Nov;50(11):1693-705.
  209. Robin ED, Theodore J, Burke CM, Oesterle SN, Fowler MB, Jamieson SW, Baldwin JC, Morris AJ, Hunt SA, Vankessel A. Hypoxic pulmonary vasoconstriction persists in the human transplanted lung. *Clin Sci (Lond)*. 1987 Mar;72(3):283-7.
  210. Rodríguez A, Taurà P, García Domingo MI, Herrero E, Camps J, Forcada P, Sabaté S, Cugat E. Hepatic cytoprotective effect of ischemic and anesthetic preconditioning before liver resection when using intermittent vascular inflow occlusion: a randomized clinical trial. *Surgery*. 2015 Feb;157(2):249-59.
  211. Rong Y, Distelhorst CW. Bcl-2 protein family members: versatile regulators of calcium signaling in cell survival and apoptosis. *Annu. Rev. Physiol*, 2008. 70, 73–91.
  212. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, Weaver J, Martin DP, Neff M. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med*. 2005;353(16):1685-93.
  213. Sakamoto K, Arakawa H, Mita S, Ishiko T, Ikei S, Egami H, Hlsano S and Ogawa M. 1994. Elevation of circulating interleukin 6 after surgery: factors influencing the serum level. *Cytokine*, Mar, vol. 6, pp. 181-186.
  214. Sakao Y, Kajikawa O, Martin TR, Nakahara Y, Hadden WA 3rd, Harmon CL, Miller EJ. Association of IL-8 and MCP-1 with the development of reexpansion pulmonary edema in rabbits. *Ann Thorac Surg*. 2001 Jun;71(6):1825-32.

215. Sánchez-Conde P, Rodríguez-López JM, Nicolás JL, Lozano FS, García-Criado FJ, Cascajo C, González-Sarmiento R, Muriel C. The comparative abilities of propofol and sevoflurane to modulate inflammation and oxidative stress in the kidney alter aortic cross-clamping. *Anesth Analg*. 2008 Feb;106(2):371-8, table of contents.
216. Sato N, Koeda K, Kimura Y, Ikeda K, Ogawa M, Saito K, Endo S. Cytokine profile of serum and bronchoalveolar lavage fluids following thoracic esophageal cancer surgery. *Eur Surg Res*. 2001 Jul-Aug;33(4):279-84.
217. Slankamenac K, Breitenstein S, Beck-Schimmer B, Graf R, Puhan MA, Clavien PA. Does pharmacological conditioning with the volatile anaesthetic sevoflurane offer protection in liver surgery?. *HPB (Oxford)*. 2012 Dec;14(12):854-862.
218. Schilling T, Kozian A, Huth C, Bühling F, Kretzschmar M, Welte T, Hachenberg T. The pulmonary immune effects of mechanical ventilation in patients undergoing thoracic surgery. *Anesth Analg*. 2005 Oct;101(4):957-65, table of contents.
219. Schilling T, Kozian A, Kretzschmar M, Huth C, Welte T, Bühling F, Hedenstierna G, Hachenberg T. Effects of propofol and desflurane anaesthesia on the alveolar inflammatory response to one-lung ventilation. *Br J Anaesth*. 2007 Sep;99(3):368-75.
220. Schneemilch CE, Ittenson A, Ansorge S, Hachenberg T, Bank U. Effect of 2 anesthetic techniques on the postoperative proinflammatory and anti-inflammatory cytokine response and cellular immune function to minor surgery. *J Clin Anesth*. 2005 Nov;17(7):517-27.
221. Schmidt EP, Yang Y, Janssen WJ, Gandjeva A, Perez MJ, Barthel L, Zemans RL, Bowman JC, Koyanagi DE, Yunt ZX, Smith LP, Cheng SS, Overdier KH, Thompson KR, Geraci MW, Douglas IS, Pearce DB, Tudor RM. The pulmonary endothelial glycocalyx regulates neutrophil adhesion and lung injury during experimental sepsis. *Nat Med* 2012; 18:1217–23.
222. Schmidt EP, Li G, Li L, Fu L, Yang Y, Overdier KH, Douglas IS, Linhardt RJ. The circulating glycosaminoglycan signature of respiratory failure in critically ill adults. *J Biol Chem* 2014; 289: 8194–202.
223. Schneemilch CE, Ittenson A, Ansorge S, Hachenberg T, Bank U. Effect of 2 anesthetic techniques on the postoperative proinflammatory and anti-inflammatory cytokine response and cellular immune function to minor surgery. *J Clin Anesth*. 2005 Nov;17(7):517-27.
224. Senturk M. New concepts of the management of one-lung ventilation. *Curr Opin Anaesthesiol* 2006;19:1–4.
225. Shavevitz JR, Varani J, Ward PA, Knight PR. Halothane and isoflurane increase pulmonary artery endothelial cell sensitivity to oxidant-mediated injury. *Anesthesiology*. 1991 Jun;74(6):1067-77.
226. Shen X, Dong Y, Xu Z, Wang H, Miao C, Soriano SG, Sun D, Baxter MG, Zhang Y, Xie Z. Selective anesthesia-induced neuroinflammation in developing mouse brain and cognitive impairment. *Anesthesiology*. 2013 Mar;118(3):502-15.
227. Sica A, Matsushima K, Van Damme J, Wang JM, Polentarutti N, Dejana E. IL-1 transcriptionally activates the neutrophil chemotactic factor/IL-8 gene in endothelial cells. *Immunology*. 1990;69(4):548-53.
228. Sido B, Teklote JR, Hartel M, Friess H, Büchler MW. Inflammatory response after abdominal surgery. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2004 Sep;18(3):439-54.
229. Slutsky AS, Ranieri VM. Mechanical ventilation: lessons from the ARDSNet trial. *Respiratory research*. 2000;1(2):73-7.
230. Slutsky AS. Lung injury caused by mechanical ventilation. *Chest*. 1999 Jul;116(1 Suppl):9S-15S. Review.
231. Slutsky AS, Tremblay LN. Multiple system organ failure. Is mechanical ventilation a contributing factor? *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Jun;157(6 Pt 1):1721-5. Review.
232. Sofra M, Fei PC, Fabrizi L, Marcelli ME, Claroni C, Gallucci M, Ensoli F, Forastiere E. Immunomodulatory effects of total intravenous and balanced inhalation anesthesia in patients with bladder cancer undergoing elective radical cystectomy: preliminary results. *J Exp Clin Cancer Res*. 2013 Feb 3;32:6.
233. Song JC, Sun YM, Yang LQ, Zhang MZ, Lu ZJ, Yu WF. A Comparison of Liver Function After Hepatectomy with Inflow Occlusion Between Sevoflurane and Propofol Anesthesia. *Anesth Analg*. 2010 Oct;111(4):1036-41.
234. Spengler RN, Allen RM, Remick DG, Strieter RM, Kunkel SL. Stimulation of alpha-adrenergic receptor augments the production of macrophage-derived tumor necrosis factor. *J Immunol* 1990;145:1430-1434.
235. Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature*. 1990;346(6283):425-34.
236. Stapleton RD, Dixon AE, Parsons PE, Ware LB, Suratt BT. The association between BMI and plasma cytokine levels in patients with acute lung injury. *Chest*. 2010;138(3):568-77.
237. Stollings LM, Jia LJ, Tang P, Dou H, Lu B, Xu Y. Immune Modulation by Volatile Anesthetics. *Anesthesiology*. 2016 Aug;125(2):399-411.
238. Straub RH, Mayer M, Kreutz M, Leeb S, Scholmerich J, Falk W. Neurotransmitters of the sympathetic nerve terminal are powerful chemoattractants for monocytes. *J Leukoc Biol* 2000;67:553-558.



239. Strieter RM, Belperio JA, Keane MP. Cytokines in innate host defense in the lung. *J Clin Invest.* 2002;109(6):699-705.
240. Strieter RM, Koch AE, Antony VB, Fick RB, Jr., Standiford TJ, Kunkel SL. The immunopathology of chemotactic cytokines: the role of interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1. *The Journal of laboratory and clinical medicine.* 1994;123(2):183-97.
241. Strieter RM, Kunkel SL. Acute lung injury: the role of cytokines in the elicitation of neutrophils. *Journal of investigative medicine: the official publication of the American Federation for Clinical Research.* 1994;42(4):640-51.
242. Stuber F, Wrigge H, Schroeder S, Wetegrove S, Zinserling J, Hoeft A. Kinetic and reversibility of mechanical ventilation-associated pulmonary and systemic inflammatory response in patients with acute lung injury. *Intensive Care Med.* 2002;28(7):834-41
243. Sugawara Y, Yamaguchi K, Kumakura S, Murakami T, Suzuki K, Nagaoka I, Inada E. Effects of sevoflurane and propofol on pulmonary inflammatory responses during lung resection. *J Anesth.* 2012 Feb;26(1):62-9.
244. Sun B, Wang J, Bo L, Zang Y, Gu H, Li J, Qian B. Effects of volatile vs. propofol-based intravenous anesthetics on the alveolar inflammatory responses to one-lung ventilation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Anesth.* 2015 Aug;29(4):570-9.
245. Suter D, Spahn DR, Blumenthal S, Reyes L, Booy C, Z'graggen BR, Beck-Schimmer B. The immunomodulatory effect of sevoflurane in endotoxin-injured alveolar epithelial cells. *Anesth Analg.* 2007 Mar;104(3):638-45.
246. Szegedi LL. Pathophysiology of one-lung ventilation. *Anesthesiol Clin North America* 2001;19:435–53.
247. Takala RS, Soukka H, Salo MS, Kirvelä O, Kääpä P, Aantaa R. Gene expression of pulmonary cytokines after sevoflurane or thiopentone anaesthesia in pigs. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2006 Feb;50(2):163-7.
248. Tanaka K, Ludwig LM, Kersten JR, Pagel PS, Wartier DC. Mechanisms of cardioprotection by volatile anesthetics. *Anesthesiology.* 2004 Mar;100(3):707-21.
249. Tomaszewski J. Pulmonary Pathology of the Acute Respiratory Distress Syndrome-Diffuse Alveolar Damage. In: Matthay M, editor. *Acute Respiratory Distress Syndrome.* New York. Marcel Dekker. 2003.
250. Tosi MF, Stark JM, Smith CW, Hamedani A, Gruenert DC, Infeld MD. Induction of ICAM-1 expression on human airway epithelial cells by inflammatory cytokines: effects on neutrophil-epithelial cell adhesion. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1992;7(2):214-21.
251. Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP, Li J, Slutsky AS. Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest.* 1997 Mar 1;99(5):944-52.
252. Tremblay LN, Slutsky AS. Ventilator-induced injury: from barotrauma to biotrauma. *Proc Assoc Am Physicians.* 1998 Nov-Dec;110(6):482-8. Review.
253. Truscott EA, McCaig LA, Yao LJ, Veldhuizen RA, Lewis JF. Surfactant protein-A reduces translocation of mediators from the lung into the circulation. *Exp Lung Res.* 2010 Sep;36(7):431-9.
254. Tsimogiannis KE, Tellis CC, Tselepis AD, Pappas-Gogos GK, Tsimoyiannis EC, Basdanis G. Toll-like receptors in the inflammatory response during open and laparoscopic colectomy for colorectal cancer. *Surg Endosc.* 2012 Feb;26(2):330-6.
255. Tutor JD, Mason CM, Dobard E, Beckerman RC, Summer WR, Nelson S. Loss of compartmentalization of alveolar tumor necrosis factor after lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:1107-11.
256. Uhlig C, Bluth T, Schwarz K, Deckert S, Heinrich L, De Hert S, Landoni G, Serpa Neto A, Schultz MJ, Pelosi P, Schmitt J, Gama de Abreu M. Effects of Volatile Anesthetics on Mortality and Postoperative Pulmonary and Other Complications in Patients Undergoing Surgery: A Systematic Review and Meta-analysis. *Anesthesiology.* 2016 Jun;124(6):1230-45.
257. Uhlig S. Ventilation-induced lung injury and mechanotransduction: stretching it too far? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002;282(5):L892-6.
258. Uhlig U. Phosphoinositide 3-OH Kinase Inhibition Prevents Ventilation-induced Lung Cell Activation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2003 Nov;169(2):201–8.
259. Van den Berg BM, Nieuwdorp M, Strokes ES, Vink H. Glycocalyx and endothelial (dys)function: from mice to men. *Pharmacol Rep* 2006; 58 Suppl: 75–80.
260. Vasiljeva O, Reinheckel T, Peters C, Turk D, Turk V, Turk B. Emerging roles of cysteine cathepsins in disease and their potential as drug targets. *Curr Pharm Des.* 2007;13:387–403.
261. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *N Engl J Med.* 2000 May 4;342(18):1301-8.
262. Veldhuizen RA, Slutsky AS, Joseph M, McCaig L. Effects of mechanical ventilation of isolated mouse lungs on surfactant and inflammatory cytokines. *The European respiratory journal: official journal of the European*

- Society for Clinical Respiratory Physiology. 2001;17(3):488-94.
263. Vincent JL, Sakr Y, Ranieri VM. Epidemiology and outcome of acute respiratory failure in intensive care unit patients. *Crit Care Med* 2003;31:S296–S299.
  264. Vlahakis NE, Hubmayr RD. Response of alveolar cells to mechanical stress. *Curr Opin Crit Care*. 2003 Feb;9(1):2–8.
  265. Walker MG, Tessolini JM, McCaig L, Yao LJ, Lewis JF, Veldhuizen RA. Elevated endogenous surfactant reduces inflammation in an acute lung injury model. *Exp Lung Res*. 2009 Sep;35(7):591-604.
  266. Walker MG, Yao LJ, Patterson EK, Joseph MG, Cepinskas G, Veldhuizen RA, Lewis JF, Yamashita CM. The effect of tidal volume on systemic inflammation in Acid-induced lung injury. *Respiration*. 2011;81(4):333-42.
  267. Wanderer AA. Hypoxia and inflammation. *N Engl J Med*. 2011;364:1976
  268. Wang B, Sun J, Kitamoto S, Yang M, Grubb A, Chapman HA, Kalluri R, Shi GP. Cathepsin S controls angiogenesis and tumor growth via matrix-derived angiogenic factors. *Biol Chem* 2006;281:6020-9.
  269. Ware LB, Conner ER, Matthay MA. von Willebrand factor antigen is an independent marker of poor outcome in patients with early acute lung injury. *Crit Care Med*. 2001;29(12):2325-31.
  270. Ware LB, Eisner MD, Thompson BT, Parsons PE, Matthay MA. Significance of von Willebrand factor in septic and nonseptic patients with acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170(7):766-72.
  271. Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2000;342(18):1334-49.
  272. Webb HH, Tierney DF. Experimental pulmonary edema due to intermittent positive pressure ventilation with high inflation pressures. Protection by positive end-expiratory pressure. *Am Rev Respir Dis*. 1974 Nov;110(5):556-65.
  273. Wei H, Liang G, Yang H, Wang Q, Hawkins B, Madesh M, Wang S, Eckenhoof RG. The common inhalational anesthetic isoflurane induces apoptosis via activation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors. *Anesthesiology*. 2008 Feb;108(2):251-60.
  274. Weinert CR, Gross CR, Kangas JR, Bury CL, Marinelli WA. Health-related quality of life after acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156(4 Pt 1):1120-8.
  275. Wesche DE, Lomas-Neira JL, Perl M, Chung CS, Ayala A. Leukocyte apoptosis and its significance in sepsis and shock. *J Leukoc Biol*. 2005 Aug;78(2):325-37.
  276. Whitehead T, Slutsky AS. The pulmonary physician in critical care \* 7: ventilator induced lung injury. *Thorax*. 2002;57(7):635-42.
  277. Wiedermann FJ, Mayr AJ, Kaneider NC, Fuchs D, Mutz NJ, Schoberberger W. Alveolar granulocyte colony-stimulating factor and alpha-chemokines in relation to serum levels, pulmonary neutrophilia, and severity of lung injury in ARDS. *Chest*. 2004;125(1):212-9.
  278. Wilson MR, Choudhury S, Goddard ME, O'Dea KP, Nicholson AG, Takata M. High tidal volume upregulates intrapulmonary cytokines in an in vivo Mouse model of ventilator-induced lung injury. *J Appl Physiol*. 2003;95(4):1385-93.
  279. Wissing H, Kuhn I, Rietbrock S, Fuhr U. Pharmacokinetics of inhaled anaesthetics in a clinical setting: comparison of desflurane, isoflurane and sevoflurane. *Br J Anaesth*. 2000 Apr;84(4):443-9.
  280. Wolthuis EK, Vlaar AP, Choi G, Roelofs JJ, Juffermans NP, Schultz MJ. Mechanical ventilation using non-injurious ventilation settings causes lung injury in the absence of pre-existing lung injury in healthy mice. *Crit Care*. 2009;13(1):R1.
  281. Wojtovich AP, Smith CO, Urcioli WR, Wang YT, Xia XM, Brookes PS, Nehrke K. Cardiac Slo2.1 Is Required for Volatile Anesthetic Stimulation of K<sup>+</sup> Transport and Anesthetic Preconditioning. *Anesthesiology*. 2016 May;124(5):1065-76.
  282. Yeaman C, Rapraeger AC. Post-transcriptional regulation of syndecan-1 expression by cAMP in peritoneal macrophages. *J Cell Biol*. 1993 Aug;122(4):941-50.
  283. Yim AP, Wan S, Lee TW, Arifi AA: VATS lobectomy reduces cytokine responses compared with conventional surgery. *Ann Thorac Surg* 2000; 70:243-47.
  284. Yin K, Gribbin E, Emanuel S, Orndorff R, Walker J, Weese J, Fallahnejad M. Histochemical alterations in one lung ventilation. *J Surg Res*. 2007 Jan;137(1):16-20.
  285. Yue T, Roth Z'raggen B, Blumenthal S, Neff SB, Reyes L, Booy C, Steurer M, Spahn DR, Neff TA, Schmid ER, Beck-Schimmer B. Postconditioning with a volatile anaesthetic in alveolar epithelial cells in vitro. *Eur Respir J*. 2008 Jan;31(1):118-25.
  286. Yuki K, Astrof NS, Bracken C, Soriano SG, Shimaoka M. Sevoflurane binds and allosterically blocks integrin lymphocyte function-associated antigen-1. *Anesthesiology*. 2010 Sep;113(3):600-9.
  287. Yuluğ E, Tekinbas C, Ulusoy H, Alver A, Yenilmez E, Aydin S, Cekiç B, Topbas M, Imamoğlu M, Arvas H. The effects of oxidative stress on the liver and ileum in rats caused by one-lung ventilation. *J Surg Res*. 2007 May 15;139(2):253-60.

288. Zah-Bogovic T, Mesaric J, Hrabac P, Majeric-Kogler V. Possible transfusion-related acute lung injury (TRALI) in cardiac surgery patients. *Croat Med J.* 2014;55:138-45.
289. Zeldin RA, Normandin D, Landtwin D, Peters RM. Postpneumectomy pulmonary edema. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1984 Mar;87(3):359-65.
290. Zemans RL, Colgan SP, Downey GP. Transepithelial migration of neutrophils: mechanisms and implications for acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009;40(5):519-35.
291. Zhang H, Downey GP, Suter PM, Slutsky AS, Ranieri VM. Conventional mechanical ventilation is associated with bronchoalveolar lavage-induced activation of polymorphonuclear leukocytes: a possible mechanism to explain the systemic consequences of ventilator-induced lung injury in patients with ARDS. *Anesthesiology.* 2002;97(6):1426-33.
292. Zhou SP, Jiang P, Liu L, Liu H. Protective effect of sevoflurane on hepatic ischaemia/reperfusion injury in the rat: A dose-response study. *Eur J Anaesthesiol.* 2013 Oct;30(10):612-7
293. Zhu W, Cowie A, Wasfy GW, Penn LZ, Leber B, Andrews DW. Bcl-2 mutants with restricted subcellular location reveal spatially distinct pathways for apoptosis in different cell types. *EMBO J.* 1996 Aug 15;15(16):4130-41.
294. Zin WA, Milic-Emili J: Esophageal Pressure Measurement. ... *Physiologic Basis of Respiratory Disease*, Hamilton, Ontario. BC Decker. 2005. p. 639-647
295. Zingg U, Forberger J, Frey DM, Esterman AJ, Oertli D, Beck-Schimmer B, Zollinger A. Inflammatory response in ventilated left and collapsed right lungs, serum and pleural fluid, in transthoracic esophagectomy for cancer. *Eur Cytokine Netw.* 2010 Mar;21(1):50-7.
296. Žura M, Kozmar A, Šakić K, Malenica B, Hrgovic Z. Effect of spinal and general anesthesia on serum concentration of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. *Immunobiology.* 2012.Jun;217(6): 622-7.